

Aus dem Zentrum für klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

aus der Medizinischen Kleintierklinik
Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

**Untersuchungen zu NTpro-BNP
bei der dilatativen Kardiomyopathie
des Dobermanns**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Verena Maria Butz
aus Deggendorf

München 2010

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Gehlen

Tag der Promotion: 13. Februar 2010

Im Gedenken an meinen Papa

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IV
I. EINLEITUNG.....	1
II. LITERATURÜBERSICHT	2
1. Die Kardiomyopathie beim Dobermann.....	2
2. Natriuretische Peptide	4
2.1. Struktur, Metabolismus und biologische Funktion	5
2.2. Peptide.....	7
2.2.1. Atriales natriuretisches Peptid (ANP).....	8
2.2.2. Urodilatin	8
2.2.3. B-typ natriuretisches Peptid (BNP).....	9
2.2.4. C-typ natriuretisches Peptid (CNP).....	11
2.3. Rezeptoren der natriuretischen Peptide.....	11
2.3.1. Natriuretischer Peptidrezeptor A (NPR-A).....	12
2.3.2. Natriuretischer Peptidrezeptor B (NPR-B)	12
2.3.3. Natriuretischer Peptidrezeptor C (NPR-C)	12
2.3.4. Natriuretischer Peptidrezeptor D (NPR-D).....	14
2.4. Verwendung	14
2.4.1. Humanmedizin	14
2.4.1.1. Diagnose.....	15
2.4.1.2. Prognose.....	19
2.4.1.3. Monitoring	23
2.4.1.4. Therapie.....	25
2.4.2. Veterinärmedizin.....	28
2.4.2.1. ANP.....	30
2.4.2.2. NTpro-ANP.....	31
2.4.2.3. ProANP 31 – 67	33
2.4.2.4. BNP.....	34
2.4.2.5. NTpro-BNP	37

III.	MATERIAL UND METHODEN.....	46
1.	Patienten	46
1.1.	Einschlusskriterien	46
1.2.	Untersuchungen	47
1.2.1.	Signalement und Anamnese	47
1.2.2.	Klinische und kardiovaskuläre Untersuchung	47
1.2.3.	Blutdruckmessung.....	47
1.2.4.	Elektrokardiographie.....	47
1.2.4.1.	Kurzzeit-Elektrokardiographie.....	48
1.2.4.2.	Langzeit-Elektrokardiographie	48
1.2.5.	Echokardiographie	48
1.2.5.1.	Zweidimensionale Echokardiographie.....	49
1.2.5.1.1.	Messung der Durchmesser von linkem Atrium und Aorta	49
1.2.5.1.2.	Linksventrikuläre Volumina und Ejektionsfraktion.....	49
1.2.5.2.	M-Mode-Echokardiographie.....	51
1.2.5.3.	Doppler-Echokardiographie	53
1.3.	Einteilung in Krankheitsstadien	53
1.3.1.	Herzgesund.....	53
1.3.2.	Noch Gesund.....	54
1.3.3.	Ausschließlich ventrikuläre Extrasystolen.....	55
1.3.4.	Ausschließlich echokardiographische Veränderungen	55
1.3.5.	Echokardiographische Veränderungen und ventrikuläre Extrasystolen ..	55
1.3.6.	Dekompensiertes Stadium.....	55
2.	Bestimmung von NTpro-BNP	56
2.1.	Blutprobengewinnung und -konservierung.....	56
2.2.	Beschreibung des Testverfahrens.....	56
2.3.	Testdurchführung	57
2.4.	Messung der optischen Dichte	59
2.5.	Bestimmung der NTpro-BNP-Konzentrationen	59
2.5.1.	Parameteranpassung	59
2.5.2.	Ausreißerbereinigung und Mittelung	60
2.6.	Validierung der Platten	60
3.	Statistische Auswertung	63
3.1.	Erstellung von Referenzwerten	63

3.2.	Untersuchung von Einflussfaktoren.....	64
3.3.	Vergleich der Krankheitsstadien	64
3.4.	Berechnung von Cut-offs	64
3.5.	Prävalenz und Prädiktive Werte.....	65
3.6.	Korrelation mit echokardiographischen Parametern.....	65
IV.	ERGEBNISSE.....	66
1.	Charakterisierung der Patienten.....	66
1.1.	Alters-, Geschlechts- und Gewichtsverteilung.....	66
1.2.	Echokardiographische Parameter.....	68
1.3.	24-Stunden-EKG.....	70
2.	NTpro-BNP.....	71
2.1.	Einflussfaktoren	71
2.2.	Referenzwert	73
2.3.	Vergleich der Krankheitsstadien.....	73
2.4.	Prädiktive Werte	86
2.5.	Korrelation mit echokardiographischen Parametern.....	88
V.	DISKUSSION	91
VI.	ZUSAMMENFASSUNG.....	109
VII.	SUMMARY	111
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	113
IX.	ANHANG	149
X.	DANKSAGUNG.....	162

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	A-Welle, spätdiastolische Mitralklappen Einflussgeschwindigkeit
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ANOVA	Analysis of Variance between Groups
ANP	Atriales Natriuretisches Peptid
Ao	Durchmesser der Aortenwurzel
ARVC	Arrhythmogen Right Ventricular Cardiomyopathy
AS	Aminosäure
ASD	Atrialer Septumdefekt
AV-Block	Atrioventrikulärer Block
aVF	Augmented Voltage Left Foot, Goldberger Ableitung
aVL	Augmented Voltage Left Arm, Goldberger Ableitung
aVR	Augmented Voltage Right Arm, Goldberger Ableitung
AUC	Area Under the Curve
BMI	Body Mass Index
BNP	B-type Natriuretic Peptide
BSA	Body Surface Area
C-ANP	Carboxy-terminales Atriales Natriuretisches Peptid
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CHF	Congestive Heart Failure = kongestives Herzversagen
CKCS	Cavalier King Charles Spaniel
CNP	C-type Natriuretic Peptide
VK	Coefficient of Variation = Korrelationskoeffizient
D	Dalton
DCM	Dilatative Cardiomyopathy = Dilatative Kardiomyopathie
DNP	Dendroaspis Natriuretisches Peptid
DT	Deceleration Time, Zeitintervall zwischen der Spitze der E-Welle und dem Erreichen der Basislinie
E	E-Welle, frühdiastolische Mitralklappen Flussgeschwindigkeit
E'	E-Welle der Gewebegeschwindigkeit am Mitralannulus
E_a	E-Welle der Gewebegeschwindigkeit am Mitralannulus
E/A	Verhältnis der Flussgeschwindigkeiten der E- und A-Welle

E/E'	Verhältnis der E-Wellen von Blutfluss- und Gewebedoppler
EDD	Enddiastolischer Durchmesser des linken Ventrikels
EDTA	EthylenDiaminTetraAcetat
EDV	Enddiastolisches Volumen des linken Ventrikels
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
ESD	Endsystolischer Durchmesser des linken Ventrikels
ESV	Endsystolisches Volumen des linken Ventrikels
FS	Fractional Shortening = Verkürzungsfraktion
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
hANP	Humanes Atriales Natriuretisches Peptid
HCM	Hypertrophic Cardiomyopathy = Hypertrophe Kardiomyopathie
hsCRP	Hochsensitives C-reaktives Protein
HWZ	Halbwertszeit
IL-6	Interleukin 6
ISACHC	International Small Animal Cardiac Health Council
IVSd	Interventrikuläres Septum, diastolisch (Durchmesser)
K-EDTA	Kalium- EthylenDiaminTetraAcetat
LA	Linkes Atrium, Durchmesser
LA/Ao	Verhältnis der Durchmesser von linkem Atrium und Aorta
log	Logarithmus
LV	Linker Ventrikel
LVH	Linksventrikuläre Hypertrophie
LVOT	Left Ventricular Outflow Tract
LVPWd	Left Ventricular Posterior Wall, diastolic = Linksventrikuläre freie Wand, diastolisch
LVPWs	Left Ventricular Posterior Wall, systolic = Linksventrikuläre freie Wand, systolisch
LVEDP	Left Ventricular Enddiastolic Pressure
LW	Linke Wand
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
M-Mode	Motion Mode
MPAP	Mean Pulmonary Arterial Pressure = Pulmonalarteriendruck

MR	Mitralregurgitation
MRproANP	Midregional proANP
MRT	Magnet Resonanz Tomograph
MVD	Mitral Valve Disease
NEP	Neutrale Endopeptidase
NPV	Negative Predictive Value = negativer prädiktiver Wert
NTpro-ANP	N-terminales Atriales Natriuretisches Peptid
NTpro-BNP	N-terminales B-type Natriuretic Peptide
NPR	Natriuretischer Peptid Rezeptor
NPRs	Natriuretische Peptid Rezeptoren
NP	Natriuretisches Peptid
NPs	Natriuretische Peptide
NYHA	New York Heart Association
p	Signifikanzniveau
PCWP	Pulmonary Capillary Wedge Pressure = Pulmonalvenendruck
PDA	Persistierender Ductus Arteriosus
PH	Pulmonäre Hypertension
PPV	Positive Predictive Value = positiver prädiktiver Wert
PS	Pulmonalstenose
RAAS	Renin Angiotensin Aldosteron System
RF	Regurgitationsfraktion
RIA	Radio Immuno Assay
ROC	Receiver Operating Characteristic
SAS	Subaortenstenose
SPSS[®]	Statistical Package for the Social Science
ST	Abstand von S- zu T-Welle im EKG
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF-α	Tumor Nekrose Faktor α
UCM	Unclassified Cardiomyopathy = unklassifizierte Kardiomyopathie
U.S. FDA	United States Food and Drug Administration
VES	Ventrikuläre Extrasystolen
VHS	Vertebral Heart Scale
VNP	Ventricular Natriuretic Peptide

vs.	versus
ZNS	Zentrales Nervensystem

I. EINLEITUNG

Die dilatative Kardiomyopathie des Dobermanns ist eine autosomal dominant vererbte Krankheit, die vor allem bei älteren Tieren häufig auftritt (MEURS et al., 2007). Im europäischen Raum erreicht sie eine kumulative Prävalenz von 63 % (WESS et al., 2009b). Sie verläuft, beginnend mit einem Schaden auf zellulärer Ebene im Myokard, über die okkulte Phase bis hin zum klinisch symptomatischen Stadium (MOISE & FOX, 1999; O'GRADY & O'SULLIVAN, 2004; MEURS et al., 2007). Mit bisherigen Untersuchungsmethoden ist die Erkrankung bei ausschließlich zellulärem Schaden nicht zu diagnostizieren. Die okkulte Phase ist durch ventrikuläre Arrhythmien, die zu Synkopen und zum plötzlichen Herztod führen können, einer systolischen myokardialen Dysfunktion oder der Kombination aus beiden Veränderungen gekennzeichnet. Bis heute ist eine Diagnose im okkulten Stadium, also bevor die Hunde klinisch offensichtliche Symptome zeigen, nur durch aufwändige spezielle kardiologische Untersuchungsmethoden zu diagnostizieren, die nicht jedem Tierarzt zur Verfügung stehen. Diese sind das 24-Stunden-EKG und die echokardiographische Untersuchung. Eine frühzeitige Diagnose dieser Krankheit spielt zum einen jedoch gerade hinsichtlich des Zuchteinsatzes der Hunde bereits in jungem Alter – und damit lange vor Auftreten klinischer Symptome der genetisch bereits determinierten Erkrankung – eine entscheidende Rolle, zum anderen kann durch eine frühzeitige medikamentelle Therapie der plötzliche Herztod verhindert werden.

Ziel dieser Studie war es, NTpro-BNP als Biomarker beim Dobermann zu evaluieren und hinsichtlich der Eignung zur Diagnose einer frühen dilatativen Kardiomyopathie zu untersuchen. Die Studienpopulation setzte sich aus 335 Hunden in „herzgesunden“, „noch normalen“, „okkulten“ und „dekompensierten“ Stadien zusammen. Zur Beurteilung des Krankheitsstadiums wurden neben einer ausführlichen kardiologischen Untersuchung sowohl das 24-Stunden-EKG und konventionelle echokardiographische Parameter als auch die erst kürzlich beim Dobermann evaluierten Parameter endsystolisches Volumen, enddiastolisches Volumen und Ejektionsfraktion herangezogen (SIMAK, 2008).

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Die Kardiomyopathie beim Dobermann

Der Dobermann ist eine der am häufigsten betroffenen Hunderassen, die an dilatativer Kardiomyopathie erkranken. Die Prävalenz beträgt in Nordamerika 45 bis 63 % (O'GRADY, 1995a; O'GRADY & HORNE, 1998; CALVERT et al., 2000a). Im europäischen Raum erreicht sie eine kumulative Prävalenz von 63 % (WESS et al., 2009b). Meist sind ältere Tiere betroffen. In einer Studienpopulation waren 77 % der erkrankten Tiere zwischen fünf und zehn Jahren alt, wobei kein signifikanter Altersunterschied zwischen den Rüden und Hündinnen festgestellt wurde. Das durchschnittliche Alter im kongestiven Herzversagen lag in einer Studie bei 6,7 Jahren. In einigen Studien wurde ein häufigeres Auftreten bei Rüden beschrieben, in zwei Studien lag indes eine homogene Geschlechtsverteilung vor (CALVERT et al., 1982, 1997b, 1998, 2000a, 2000b.; CALVERT & BROWN, 1986; JACOBS & CALVERT, 1995; O'GRADY & HORNE, 1998; MEURS et al., 2007).

Die Kardiomyopathie beim Dobermann ist eine autosomal dominant vererbte Erkrankung, in deren Verlauf Myokardzellen durch Kollagen oder Fettzellen ersetzt werden (EVERETT et al., 1999; TIDHOLM & JONSSON, 2005; MEURS et al., 2007). Im subklinischen Stadium kommt es zu Schäden auf zellulärer Ebene, die makroskopisch nicht identifizierbar sind und noch keine elektrokardiographischen Veränderungen auslösen. Im nachfolgenden okkulten Stadium sind die Hunde für den Besitzer weiterhin unauffällig, jedoch treten typischerweise bei dieser Rasse meist vor echokardiographisch nachweisbaren Veränderungen bereits ventrikuläre Arrhythmien auf. Bis zu 30 % der Hunde sterben in dieser Phase am plötzlichen Herztod aufgrund ventrikulärer Tachyarrhythmien. Wird die okkulte Phase überlebt, entwickelt sich in der klinischen Phase aufgrund der systolischen und diastolischen Dysfunktion mit konsekutiver Volumenüberladung ein kongestives Herzversagen. Häufig treten Synkopen auf, bis zu 50 % der Patienten sterben in dieser Phase ebenfalls am plötzlichen Herztod (CALVERT et al., 1982, 1997a, 1997b; CALVERT & BROWN, 1986; TIDHOLM & JONSSON, 1997; O'GRADY & HORNE, 1998; O'GRADY & O'SULLIVAN, 2004; O'SULLIVAN et al., 2007a).

Die Kardiomyopathie beim Dobermann kann bislang erst im okkulten Stadium, diagnostiziert werden. Dabei ist das 24-Stunden-EKG (Holter) die Methode der Wahl (MEURS et al., 2001a; O'GRADY, 2002). Durch die echokardiographische Untersuchung können zusätzlich systolische und diastolische Funktionsveränderungen erkannt werden, die allerdings teilweise auch isoliert auftreten (CALVERT & BROWN, 1986; O'SULLIVAN et al., 2007a). Als Grenze zwischen einem unauffälligen Befund und einer dilatativen Kardiomyopathie werden je nach Studie unterschiedliche Werte angegeben. Die am häufigsten verwendeten Parameter zur Beurteilung der kardialen Funktion sind hierbei die linksventrikulären Durchmesser in Diastole und Systole sowie die Verkürzungsfraction. Die Grenze für einen physiologischen linksventrikulären diastolischen Durchmesser liegt zwischen 4,2 und 5,0 cm, für einen physiologischen systolischen Durchmesser zwischen 3,8 und 4,0 cm. Zusätzlich werden von manchen Autoren innerhalb dieser Bereiche zusätzliche Grenzwerte in Abhängigkeit von Geschlecht oder Gewicht gesetzt. Im Herzversagen beträgt die Verkürzungsfraction maximal 15 % (CALVERT et al., 1982, 1997a, 2000a, 2000b; CALVERT & BROWN, 1986; O'GRADY, 1995a, 1995b; CALVERT & WALL, 2001b; O'SULLIVAN et al., 2007a, 2007b).

Die Therapie der dilatativen Kardiomyopathie muss den jeweiligen Symptomen angepasst werden und reicht im dekompensierten Stadium von Diuretika über ACE-Inhibitoren bis hin zu positiv inotropen Medikamenten. Hunde, die im kongestiven Herzversagen mit Pimobendan behandelt wurden, hatten signifikant längere Überlebenszeiten als die Placebogruppe. Zusätzlich müssen Vorhofflimmern und andere Tachyarrhythmien durch Antiarrhythmika kontrolliert werden (CALVERT & BROWN, 1986; FUENTES et al., 2002; MEURS, 2002; MOISE, 2002; O'GRADY & O'SULLIVAN, 2004; O'GRADY et al., 2008). Der Eintritt des kongestiven Herzversagens konnte für Hunde, die bereits im okkulten Stadium mit ACE-Hemmern behandelt wurden, signifikant hinausgezögert werden (O'GRADY et al., 1997, 2009). Im okkulten Stadium wird bei schnellen ventrikulären Extrasystolen, ventrikulären Tachykardien und komplexen ventrikulären Tachyarrhythmien, wie multiformen ventrikulären Extrasystolen, Couplets, Triplets und Bigemini, bereits eine antiarrhythmische Therapie empfohlen, um Synkopen und einen plötzlichen Herztod zu verhindern (CALVERT, 1995; MEURS, 2002; MOISE, 2002).

2. Natriuretische Peptide

Die Familie der natriuretischen Peptide besteht aus strukturell ähnlichen, aber genetisch verschiedenen Peptiden mit gemeinsamen biochemischen und physiologischen Eigenschaften. DE BOLD und Mitarbeiter (1981) injizierten Ratten ein Extrakt aus einem Homogenisat atrialen Myokards und beobachteten eine massive Diurese und Natriurese. 1984 wurde die Struktur des atrialen natriuretischen Peptides (ANP) identifiziert, desjenigen Peptidhormons, das für vorher genannte Phänomene verantwortlich war (KANGAWA et al., 1984a; KANGAWA & MATSUO, 1984). Vier Jahre später wurde ein weiteres Peptid mit natriuretischen und diuretischen Eigenschaften, ähnlich dem ANP, aus dem Gehirn von Schweinen erstmals isoliert (SUDOH et al., 1988). Entsprechend dem Fundort wurde es als Brain Natriuretic Peptide (BNP) bezeichnet. (MINAMINO et al., 1988a, 1988b). MINAMINO und Mitarbeiter (1988) fanden BNP kurz darauf auch im Myokard von Schweinen, vor allem im Atrium. HOSODA und Mitarbeiter (1991) stellten schließlich fest, dass BNP, bestehend aus 32 Aminosäuren, hauptsächlich im Ventrikelmyokard synthetisiert wird. Daher wird die Bezeichnung B-type Natriuretisches Peptid favorisiert. Es sind jedoch nicht alle natriuretischen Peptide kardialen Ursprungs. SCHULZ-KNAPPE und Mitarbeiter (1988) entdeckten in humanem Urin ein natriuretisches Peptid, das immunologisch wie ANP reagierte, mit dem aus 28 Aminosäuren bestehenden ANP aber nicht identisch war. Urodilatin ist ein aus 32 Aminosäuren bestehendes Peptid, das zwar vom gleichen Gen und Präkursor wie ANP stammt, aufgrund anderer Spaltung aber ein um vier Aminosäuren verlängertes aminotermiales Ende besitzt (GUNNING & BRENNER, 1993). BARR und Mitarbeiter (1996) isolierten das C-type Natriuretic Peptide (CNP), bestehend aus 22 Aminosäuren, aus dem zentralen Nervensystem (ZNS) und Gefäßendothelzellen. Es existiert in vier Isoformen und findet sich auch in den Nieren, den Chondrozyten und der Hypophyse. In humanem Plasma kommt es nur in sehr geringen Konzentrationen vor, allerdings wird es in hohen Konzentrationen im Gewebe exprimiert, entsprechen seiner auto- und parakrinen Funktion (WEI et al., 1993b; HORIO et al., 2003). Dendroaspis Natriuretic Peptide (DNP), welches strukturelle Ähnlichkeit zu ANP, BNP und CNP aufweist, wurde aus der Giftdrüse der grünen Mamba (*Dendroaspis angusticeps*) extrahiert (SCHWEITZ et al., 1992). Die Funktion von DNP ist noch nicht eindeutig geklärt; durch seinen

vasorelaxierenden Effekt könnte es jedoch die Aufnahme des Schlangengiftes erhöhen (BEST et al., 2002). Interessant ist, dass in humanem Plasma und humanem atrialem Myokard eine DNP-ähnliche Immunreaktivität zu finden ist. Es konnte gezeigt werden, dass die Stärke der Reaktion mit der Schwere des Herzversagens korreliert (LISY et al., 1999; SCHIRGER et al., 1999; SINGH et al., 2006). Ventricular Natriuretic Peptide (VNP) wurde 1991 in Myokardzellen des Aals gefunden (TAKEI et al., 1991), des weiteren nur bei anderen Strahlenflossern (Polypteriformes) wie den Flösselhechten, dem Stör und der Forelle, wo es ausschließlich im Myokard exprimiert wird. Es spielt eine wichtige Rolle im Wasserhaushalt dieser Fische und unterscheidet sich von anderen natriuretischen Peptiden durch sein langes, aus 14 Aminosäuren bestehendes carboxy-terminales Ende und seine hohe Affinität sowohl für den Natriuretischen Peptid Rezeptor A (NPR-A) als auch den Natriuretischen Peptid Rezeptor C (NPR-C) (TSUKADA & TAKEI, 2001; KAWAKOSHI et al., 2004; TAKEI et al., 2007).

Die kardialen natriuretischen Peptide ANP und BNP spielen eine fundamentale Rolle bei der Regulation des Salz- und Wasserhaushalts, des Blutdrucks sowie dem kardiovaskulären Remodeling (MORITA et al., 1992). Sie wirken als gegenregulatorische Hormone bei erhöhter sympathomimetischer und neurohumoraler Aktivität als Antwort auf erhöhte Wandspannung und myokardiale Ischämie, wie bei kongestivem Herzversagen (BAUGHMAN, 2002).

2.1. Struktur, Metabolismus und biologische Funktion

Die natriuretischen Peptide werden als hochmolekulare Präkursor-Proteine synthetisiert, die anschließend intrazellulär posttranslational modifiziert werden. Obwohl das jeweilige Präkursor-Protein des entsprechenden natriuretischen Peptids von einem eigenen Gen kodiert wird, beinhalten sie alle eine charakteristische homologe Ringstruktur, bestehend aus 17 Aminosäuren zwischen einer Disulfidbrücke aus Cystein 129 und 145, wie in Abb. 1 dargestellt (LEVIN et al., 1998).

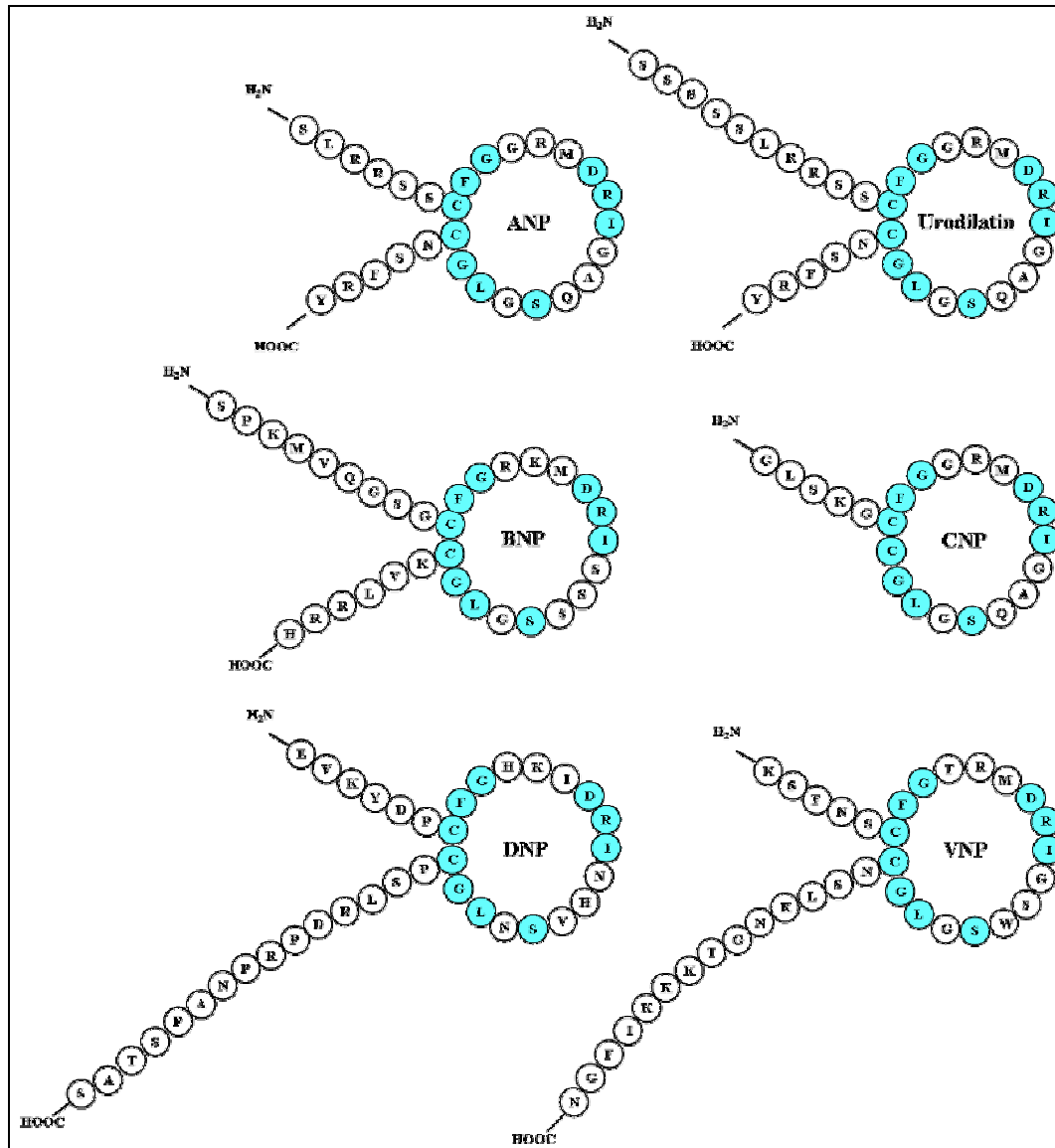


Abbildung 1: Darstellung der natriuretischen Peptide (ANP = atriales natriuretisches Peptid, BNP = Brain-Typ natriuretisches Peptid, CNP = C-Typ natriuretisches peptid, DNP = Dendroaspis natriuretisches Peptid, VNP = ventrikuläres natriuretisches Peptid; blau unterlegt: homologe Sequenzen, Kodierung der Aminosäuren nach dem Einbuchstabencode, siehe Anhang Tabelle 1).

Die wichtigste Wirkung der natriuretischen Peptide besteht in einer Relaxation der glatten Muskulatur der Arteriolen, wobei der Effekt der Vasodilatation am stärksten an den afferenten renalen Blutgefäßen ausgeprägt ist, an den efferenten Arteriolen hingegen kommt es zu einer Vasokonstriktion (MARIN-GREZ et al., 1986). Dies führt zu einer Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und dadurch zu einer Steigerung der Natriurese und Diurese sowie vermehrter Ausscheidung von Chlorid und Calcium (YUKIMURA et al., 1984; NISHIDA et al., 1990; LEVIN et al., 1998). In den Tubulusepithelien wird die Natriumrückresorption gehemmt (LEVIN et al., 1998). Durch Herabsetzung des

peripheren Widerstands wirken die natriuretischen Peptide zudem blutdrucksenkend. Darüber hinaus wird das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) antagonisiert (WADA et al., 1994; CLARKSON et al., 1996; BRUNNER-LA ROCCA et al., 2001). Die Aldosteronfreisetzung wird sowohl direkt in der Nebennierenrinde als auch durch Hemmung der Reninfreisetzung unterdrückt (AKABANE et al., 1991). Die Freisetzung von Vasopressin, Noradrenalin, Endothelinen und Cytokinen wird ebenfalls gehemmt (WADA et al., 1994; LEVIN et al., 1998; STEIN & LEVIN, 1998; BAUGHMAN, 2002). Das Besondere an ANP und BNP ist, dass sie die kardiale Vorlast senken, ohne dass eine reflexbedingten Tachykardie ausgelöst wird (CROZIER et al., 1986). Dies ist am ehesten mit einer Erhöhung des Vagotonus in Kombination mit Suppression von afferenten sympathomimetischen Signalen des ZNS und daraus resultierender geringerer Freisetzung von Katecholaminen an den Synapsen des autonomen Nervensystems zu erklären (SCHULTZ et al., 1988). Außerdem zeigt BNP einen direkten autokrin bzw. parakrin vermittelten vasodilatatorischen Effekt auf die Koronararterien im kongestiven Herzversagen (YAMAMOTO et al., 1997). Die natriuretischen Peptide spielen auch eine Rolle bei der Modulation des Zellwachstums, indem sie antimittogen auf kardiale Zellen wirken (GEORGE et al., 2009). Durch seine antiproliferativen und antifibrotischen Eigenschaften, die vasodilatatorischen Effekte sowie Hemmung des sympathischen Einflusses auf das Herz besitzt BNP eine kardioprotektive Wirkung (CAO & GARDNER, 1995; FUJISAKI et al., 1995; VAN DER ZANDER et al., 2002; GAO et al., 2009).

2.2. Peptide

Von den bisher bekannten sechs natriuretischen Peptiden sind das atriale natriuretische Peptid (ANP), Urodilatin, das B-type natriuretische Peptid (BNP) und das C-type natriuretische Peptid (CNP) bei Säugetieren nachgewiesen. Dendroaspis natriuretisches Peptid (DNP) und das ventrikuläre natriuretische Peptid (VNP) hingegen sind spezielle Varianten bei Reptilien und Fischen.

2.2.1. Atriales natriuretisches Peptid (ANP)

ANP wurde bei Menschen erstmals 1981 von DE BOLD und Mitarbeitern beschrieben und 1984 geklont und sequenziert (DE BOLD et al., 1981; OIKAWA et al., 1984). Es wird hauptsächlich in myoendokrinen Zellen der Atrien als prä-proANP (151 AS beim Menschen, 153 AS bei der Katze, 149 AS beim Hund) synthetisiert, die sich auch vereinzelt im Ventrikelmyokard befinden (OIKAWA et al., 1985; BIONDO et al., 2003). Bei Feten und Neonaten, Hypertrophie der Ventrikel und bei Volumenüberladung findet eine vermehrte Produktion von ANP in den Ventrikeln statt (SAITO et al., 1989; LEVIN et al., 1998). Nach Abspaltung eines Signalpeptids (Mensch und Katze: 25 AS, Hund: 23 AS) wird der Präkursor pro-ANP (Mensch und Hund: 126 AS, Katze: 128 AS) in atrialen Granula gespeichert (OIKAWA et al., 1985; BIONDO et al., 2002). Direkt proportional zur Intensität der atrialen Dehnung wird pro-ANP im endoplasmatischen Retikulum von Endoproteasen in ein aminotermiales Fragment (NTpro-ANP) bestehend aus 98 Aminosäuren und das aktive carboxyterminale ANP (Mensch und Hund: 28 AS, Katze: 30 AS) aufgespalten und in äquimolaren Mengen ins Blut abgegeben (OIKAWA et al., 1985; HAGGSTROM et al., 1994, 2000; LEVIN et al., 1998; KOIE et al., 2001; TIDHOLM et al., 2001; BIONDO et al., 2003; SISSON, 2003). Eine Erhöhung der Herzfrequenz ist ein weiterer Stimulus für die Freisetzung von ANP (HAGGSTROM et al., 1994; TIDHOLM et al., 2001; SISSON, 2003). Aufgrund der Tatsache, dass sich die Plasmakonzentration von ANP den physiologischen Gegebenheiten bezüglich Volumenüberladung und Tachykardie schnell anpasst, ist ANP ein guter Marker für akute Volumenüberladung und plötzliche hämodynamische Veränderungen. Die Konzentration von ANP ist 10- bis 50-mal höher als die von BNP (POTOCKI et al., 2009). Die biologisch aktive Form hat ein Molekulargewicht von circa 3000 D und eine biologische Halbwertszeit (HWZ) von ein bis fünf Minuten; NTpro-ANP besitzt eine 8 bis 10fache HWZ (LEVIN et al., 1998).

2.2.2. Urodilatin

Das durch alternatives Splicing von proANP entstehende Urodilatin wird in den distalen tubulären Zellen der Nieren synthetisiert, luminal sezerniert und reguliert parakrin in den distalen Segmenten des Nephrons die Natrium- und Wasser-

reabsorption (FORSSMANN et al., 1986, 1998). Es senkt die Reninsekretion im juxtamedullären Apparat und inhibiert sowohl die Aldosteronfreisetzung in der Zona glomerulosa der Nebennierenrinde als auch die durch Angiotensin II stimulierte Salz- und Wasserresorption im proximalen Tubulus (ZEIDEL, 1995). Im Vergleich zu ANP besitzt Urodilatin eine höhere Stabilität gegen den enzymatischen Abbau durch neutrale Endoproteasen (GAGELMANN et al., 1988).

2.2.3. B-type natriuretisches Peptid (BNP)

BNP wird unter normalen physiologischen Umständen hauptsächlich in den Atrien synthetisiert (LUCHNER et al., 1998; BIONDO et al., 2003). Die biologisch aktive Form hat ein Molekulargewicht von ca. 3500 D, das biologisch inaktive aminoterminal NTpro-BNP circa 8500 D. Bei Vorliegen von pathologischen kardialen Veränderungen wie einer erhöhten Wandspannung und myokardialen Dehnung, vornehmlich durch chronische Volumenüberladung sowie durch myokardiale Hypoxie induziert, aber auch bei ventrikulärer Hypertrophie, steigt zuerst die Synthese in den Atrien und die Produktion in den Myozyten der Ventrikel beginnt (SAITO et al., 1989; NAKAGAWA et al., 1995; YAMAMOTO et al., 1996; CLERICO et al., 1998; BIONDO et al., 2003; GOETZE et al., 2004). Erst im kongestiven Herzversagen wird das Ventrikelmyokard zum Hauptproduzenten für BNP (LUCHNER et al., 1998; BIONDO et al., 2003). Im Gegensatz zu ANP, welches in Granula gespeichert wird, wird die Synthese und Freisetzung von BNP über eine gesteigerte respektive verminderte Genexpression reguliert. Daher fluktuiert die Plasmakonzentration von BNP nicht so stark wie die von ANP und ist weniger anfällig für kurze externe Stimuli (YOSHIMURA et al., 1993; LEVIN et al., 1998). Der Präkursor präpro-BNP (134 AS beim Menschen, 132 AS bei der Katze) wird zu dem Prohormon proBNP (108 AS bzw. 106 AS) und einem Signalpeptid (26 AS) gespalten (BIONDO et al., 2002). Bei Vorliegen anhaltender ventrikulärer Dehnung und Volumenüberladung wird pro-BNP in die Blutbahn sezerniert. Dort erfolgt die Spaltung in das physiologisch aktive BNP und das biologisch inaktive aminoterminal BNP (NTpro-BNP) (LEVIN et al., 1998). BNP hat eine HWZ von 20 – 22 Minuten, die von NTpro-BNP beträgt ein bis zwei Stunden. Sowohl ANP als auch BNP werden in geringen Mengen permanent freigesetzt, die Sekretion

wird als Antwort auf entsprechende Stimuli gesteigert. Dehnung der Myozyten wird als der zentrale Regulator der ANP und BNP Freisetzung angesehen (HAGGSTROM et al., 2000). Auch myokardiale Hypertrophie und Ischämie stimulieren die ANP und BNP Freisetzung (HORI et al., 2008a; BRUDER et al., 2009). Bei Patienten mit Koronarerkrankung gehen erhöhte (NTpro-)BNP Spiegel mit einer schlechteren Prognose einher (ABDULLAH et al., 2005). In der „Dallas Heart Study“ konnte gezeigt werden, dass NTpro-BNP mit den Koronararterien-Calcium-Scores korreliert und Artherosklerose direkt die Aktivierung des kardialen neurohumoralen Systems beeinflusst (ABDULLAH et al., 2005). Einige endogen vasoaktive Substanzen (Vasopressin, Angiotensin II, Endothelin-1), Neurotransmitter (Adrenalin, Noradrenalin, Acetylcholin), inflammatorische Zytokine (TNF- α , Interleukin 6) und Hormone (Glukokortikoide, Thyroidhormone) stimulieren direkt die Freisetzung von ANP und BNP (TIDHOLM et al., 2001; MARTINEZ-RUMAYOR et al., 2008). Auch septischer Schock, akutes oder chronisches Nierenversagen, Anämie und pulmonale Hypertension können zu einem Anstieg der Konzentration führen (ESPINER et al., 1986; CHARPENTIER et al., 2004; WILLIS et al., 2005; WOLD KNUDSEN et al., 2005; HOGENHUIS et al., 2007). Ein erhöhter Body Mass Index (BMI) korreliert dagegen negativ mit der (NTpro-)BNP Konzentration (DAS et al., 2005). Dies könnte auf eine erhöhte Abbaurate zurückzuführen sein, da auf Adipozyten eine erhöhte Konzentration an NPR-C gefunden wurde (SARZANI et al., 1996; DESSI-FULGHERI et al., 1998). Der Einfluss von Alter, Herzfrequenz, zirkadianer Rhythmik, Anstrengung, Hitze und Kälte ist beschrieben (ESPINER et al., 1986; LEVIN et al., 1998). Hypoxie dagegen stimuliert zwar die myozytäre Ausschüttung von BNP und Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), nicht aber von ANP (CASALS et al., 2009). Proinflammatorische Zytokine, zusammen mit ventrikulärer Dysfunktion und kardialer Fibrose, sind offensichtlich die Hauptinduktoren der BNP-Produktion in kardialen Fibroblasten (JARAI et al., 2009b). Interessanterweise kann dieser Effekt durch ein Statin gehemmt werden (JARAI et al., 2009b). Diese Studie zeigt, dass erhöhte Plasma-BNP-Spiegel nicht nur auf myokardiale Dehnung hinweisen, sondern auch auf inflammatorische Prozesse und Remodeling (JARAI et al., 2009b).

2.2.4. C-typ natriuretisches Peptid (CNP)

Die physiologische Wirkung von CNP differiert von derjenigen des ANP und BNP. CNP hat kaum diuretische und natriuretische Eigenschaften und ist kein im Körper zirkulierendes Hormon, außerdem inhibiert es die Aktivierung von Fibroblasten und verlangsamt so die Fibrosierung stärker als ANP und BNP (IGAKI et al., 1998; HORIO et al., 2003). Auf autokrinem und parakrinem Weg wirkt es in der Gefäßmuskulatur als Vasodilatator und hemmt die Proliferation der Gefäßzellen (HUNT et al., 1994; BARR et al., 1996). Zudem fungiert es im zentralen Nervensystem als Neurotransmitter (BARR et al., 1996; DEL RY et al., 2006) und spielt eine wichtige Rolle bei der enchondralen Ossifikation, der endokrinen Funktion der Testes, der Spermatogenese und der adäquaten Funktion der Plazenta während der Gravidität (CARVAJAL et al., 2001; EL-GEHANI et al., 2001; WALTHER & STEPAN, 2004).

2.3. Rezeptoren der natriuretischen Peptide

Die natriuretischen Peptide sind Liganden von vier unterschiedlichen hochaffinen Rezeptoren, NPR-A, NPR-B, NPR-C und NPR-D (MAACK, 1992; PANDEY, 2005). Alle natriuretischen Peptid Rezeptoren (NPRs) besitzen eine gleiche extrazelluläre Bindungsdomäne und transmembrane Struktur. Sie unterscheiden sich jedoch insofern, als dass NPR-A und NPR-B eine homologe intrazelluläre Kinase und Guanylylcyclase besitzen, die sowohl NPR-C als auch NPR-D fehlt. NPR-A, NPR-B und NPR-D werden als Tetramer exprimiert, wogegen NPR-C als Adimer aufgebaut ist (PANDEY, 2005). Diese spezifischen Rezeptoren wurden in den Zellen der glatten Gefäßmuskulatur, der Glomerula sowie den medullären und papillären Vasa recta der Nieren, in Endothelzellen, Lunge, Nebennieren, Leber und Darm nachgewiesen (LEVIN et al., 1998; STEIN & LEVIN, 1998). Die Bezeichnung ist allerdings irreführend, da die Rezeptoren nicht die jeweils ebenso benannten natriuretischen Peptide binden. NPR-A und NPR-B vermitteln alle bekannten biologischen Funktionen der Hormone, wobei ANP, BNP und Urodilatin bevorzugt an die Rezeptoren des A-Typs binden, CNP an den B-Typ. Die biologischen Funktionen der natriuretischen Peptide werden bei Bindung an NPR-A und NPR-B durch eine intrazelluläre Akkumulation von cGMP aufgrund der Aktivierung der membrangebundenen Guanylatcyclase vermittelt (LEITMAN & MURAD, 1986; HEIM et al., 1989).

2.3.1. Natriuretischer Peptidrezeptor A (NPR-A)

Dieser Rezeptor wird in Lunge, Herz, Gehirn, Nieren, Nebennieren und dem terminalen Ileum exprimiert (POTTER et al., 2006). Seine Stimulation löst Natriurese, die Hemmung von Renin und Aldosteron, Vasorelaxation, Lusitropie sowie Hemmung von Hypertrophie und Fibrosierung aus (LEE & BURNETT, 2007). NPR-A deprivierte Tiere entwickeln Hypertension, linksventrikuläre Hypertrophie und Fibrose (LOPEZ et al., 1995; POTTER et al., 2006). Seine Affinität für die natriuretischen Peptide staffelt sich wie folgt: $DNP > ANP \geq BNP = VNP \gg CNP$ (BEST et al., 2002; TAKEI & HIROSE, 2002; INOUE & TAKEI, 2006; SINGH et al., 2006).

2.3.2. Natriuretischer Peptidrezeptor B (NPR-B)

NPR-B wird in Lunge, Gehirn, Haut, Nebennieren, Nieren, Uterus und Ovarien exprimiert (POTTER et al., 2006). Im Gegensatz zu NPR-A, der sowohl in Arterien als auch in Venen in ähnlicher Konzentration vorkommt, wird NPR-B in wesentlich höherer Konzentration in den Venen gebildet (WEI et al., 1993a). Daher mediiert die Stimulation von NPR-B (vorwiegend durch CNP) durch den Anstieg von cGMP in der glatten Gefäßmuskulatur eine Vasorelaxation, die einen stärkeren hypotensiven Effekt hat als die durch NPR-A vermittelte, da Aktivierung von NPR-A auch zu einer arteriellen Vasokonstriktion führt (WENNBERG et al., 1999). NPR-B knock-out Mäuse entwickeln Zwergwüchsigkeit und Infertilität der weiblichen Tiere (TAMURA et al., 2004). Bindung an NPR-B führt nicht zur Natriurese oder Diurese, sondern wirkt kardioprotektiv (DICKEY et al., 2007). Seine Affinität für die natriuretischen Peptide staffelt sich wie folgt: $CNP > VNP \gg ANP = DNP \geq BNP$ (LEVIN et al., 1998; PIAO et al., 2004; INOUE & TAKEI, 2006).

2.3.3. Natriuretischer Peptidrezeptor C (NPR-C)

NPR-C vermittelt den Abbau der Peptide (HOLLISTER et al., 1989; KENNY et al., 1993; STEIN & LEVIN, 1998). Er wird in Lunge, Gehirn, Herz, Nebennieren, Nieren, Mesenterium, Fettgewebe, Plazenta, Venen und Aorta exprimiert (POTTER et al., 2006). Im Gegensatz zu NPR-A und NPR-B fehlen ihm die Kinasehomologie und die Domänen für die Guanylylcyclase zur Produktion von

cGMP (JAUBERT et al., 1999; MATSUKAWA et al., 1999). Studien von JAUBERT und Mitarbeitern (1999) und MATSUKAWA und Mitarbeitern (1999) zeigten anhand eines transgenen Mausmodells, dass die Halbwertszeit von radioaktiv markiertem ANP bei NPR-C deprivierten Mäusen um 66 % länger war als bei gesunden Tieren. Dies führt zu dem Schluss, dass NPR-C vor allem als Modulator für die Verfügbarkeit von natriuretischen Peptiden in den Zielorganen fungiert. Die an NPR-C gebundenen Liganden werden lysosomal hydrolysiert, wobei der Rezeptor wieder recycelt wird (POTTER et al., 2006). Neuere Studien zeigen, dass NPR-C auch an inhibitorische G-Proteine binden, die Adenylylcyclase hemmen und Phospholipase-C aktivieren kann. ROSE und GILES (2008) zeigten, dass CNP durch Bindung an NPR-C selektiv L-Typ-Kalziumkanäle in den Myozyten der Atrien, der Ventrikel und dem Sinusknoten hemmt. Zudem hat CNP, ebenfalls durch NPR-C vermittelt, elektrochemische Wirkung auf Fibroblasten und die glatte Gefäßmuskulatur in Mesenterial- und Koronararterien. Die antiproliferativen Effekte von BNP und CNP auf kardiale Fibroblasten scheinen durch diese Mechanismen vermittelt zu werden (ROSE & GILES, 2008). Seine Affinität für die natriuretischen Peptide staffelt sich wie folgt: VNP = ANP \geq CNP > BNP = DNP (INOUE & TAKEI, 2006; POTTER et al., 2006; JOHNS et al., 2007; ROSE & GILES, 2008).

Neben dem durch NPR-C vermittelten Abbau durch Endozytose und folgender lysosomaler Spaltung werden natriuretische Peptide auch enzymatisch von der unspezifischen, membrangebundenen neutralen Endopeptidase (NEP), einer Zink-Metallopeptidase, die in vaskulären und tubulären Zellen zu finden ist, hydrolysiert. Die Abbaurate durch NEP variiert unter den natriuretischen Peptiden in Abhängigkeit von der Länge des jeweiligen carboxy-terminalen Endes. Die natriuretischen Peptide werden in folgender Rangfolge bevorzugt durch die NEP abgebaut: CNP > ANP > BNP > DNP (DUSSAULE et al., 1993a, 1993b; CHEN et al., 2002). Die amino-(N)-terminalen Fragmente der Prohormone werden weder NPR-vermittelt noch durch die NEP abgebaut, sondern von Organen mit hoher Durchblutung, wie der Niere, eliminiert (SMITH et al., 2000; GOETZE et al., 2006).

2.3.4. Natriuretischer Peptidrezeptor D (NPR-D)

NPR-D wurde bis *dato* nur beim Aal isoliert (KASHIWAGI et al., 1995). Wie NPR-C fehlt ihm die katalytische Guanylylcyclasedomäne. Im Gegensatz zu NPR-C ist er als Tetramer aufgebaut und wird nur in wenigen Organen, vor allem im Gehirn, exprimiert. Seine Funktion ist noch nicht eindeutig geklärt. Die Affinität für die natriuretischen Peptide beim Aal staffelt sich wie folgt: ANP = VNP \geq CNP (TAKEI & HIROSE, 2002; INOUE & TAKEI, 2006).

2.4. Verwendung

Aufgrund ihrer Spezifität als gegenregulatorische Hormone bei erhöhter sympathomimetischer und neurohumoraler Aktivität als Antwort auf erhöhte Wandspannung und myokardiale Ischämie, wie bei kongestivem Herzversagen, sind die kardialen natriuretischen Peptide ANP und BNP sowohl in Human- als auch Veterinärmedizin Gegenstand intensiver Forschung. Untersucht werden ihre Eignung als biologischer Marker zur Diagnose, Therapie, Verlaufskontrolle und Prognose von kardialen Erkrankungen.

2.4.1. Humanmedizin

Im Herbst 2000 hat die U.S. Food and Drug Administration (U.S. FDA) BNP als zusätzliches Diagnostikum für kongestives Herzversagen zugelassen. In der Humanmedizin sind BNP und sein biologisch inertes Spaltprodukt NTpro-BNP die am besten untersuchten natriuretischen Peptide, da sie sich unter den natriuretischen Peptiden als die sensitivsten und spezifischsten Indikatoren der kardialen Funktion erwiesen haben (MARK & FELKER, 2004). Obwohl BNP und NTpro-BNP in äquimolaren Mengen sezerniert werden, sind die individuellen Werte der beiden Peptide nicht austauschbar. Sie haben unterschiedliche Halbwertszeiten, Größenordnungen und Cut-offs und werden unterschiedlich abgebaut. In Tabelle 1 sind Einflussfaktoren auf die (NTpro-)BNP Konzentration aufgelistet.

Tabelle 1: Einflussfaktoren auf die (NTpro-)BNP Konzentration (LV = linker Ventrikel, LVH = linksventrikuläre Hypertrophie).

Physiologische Faktoren	Alter
	Weibliches Geschlecht
	Adipositas
Kardiovaskuläre Faktoren	Herzversagen
	Ischämie
	Arrhythmien
	Klappenerkrankungen
	Hypertension mit LVH
	Asymptomatische LV Dysfunktion
	Kardiogener Schock
Nichtkardiale Faktoren	Lungenembolie
	Cor pulmonale
	Sepsis
	Septischer Schock
	Pulmonäre Hypertension
	Hyperthyroidismus
	Nierenversagen
	Anämie
	Tumore der Lunge
	Intrazerebrale Hämorrhagie
	Fortgeschrittene Lebererkrankungen
	Exzessiv erhöhte Kortisolspiegel
	Apnoe Syndrom

2.4.1.1. Diagnose

Die Plasmakonzentrationen von BNP und NTpro-BNP korrelieren quantitativ mit der Schwere der linksventrikulären Dysfunktion, den Klassen der New York Heart Association (NYHA) und hämodynamischen Indizes wie dem rechtsatrialen Druck, dem pulmonären Venendruck und dem linksventrikulären enddiastolischen Druck (MAISEL, 2002; MCCULLOUGH et al., 2002, 2003; RICHARDS et al., 2003; MUELLER et al., 2004). (NTpro-)BNP ist vor allem zur Diagnose von

kongestivem Herzversagen bei Patienten mit akuter Dyspnoe ein etablierter Biomarker (MAISEL et al., 2002, 2004; MUELLER et al., 2004; JANUZZI et al., 2005; BRAUNWALD, 2008).

In der „Breathing Not Properly Multinational Study“ konnte gezeigt werden, dass eine einzige Bestimmung von BNP sofort bei Einlieferung des Patienten Herzversagen als Ursache für Dyspnoe besser identifizieren konnte als alle anderen anamnestischen und klinischen Befunde oder Laborparameter. Die BNP Konzentrationen waren am höchsten bei Patienten mit akutem dekompensiertem Herzversagen (675 ± 450 pg/ml). Patienten mit ventrikulärer Dysfunktion ohne Verschlechterung wiesen eine mittlere BNP-Konzentration von 346 ± 390 pg/ml auf, Patienten ohne Herzversagen oder ventrikulärer Dysfunktion 110 ± 225 pg/ml. Bei einem Cut-off von 100 pg/ml lagen die Sensitivität bei 90 % und die Spezifität bei 76 % zur Unterscheidung von Dyspnoe aufgrund kongestiven Herzversagens (CHF) von anderweitig verursachter Dyspnoe. Um Herzversagen auszuschließen wurde bei einem Cut-off von 50 pg/ml ein negativer prädiktiver Wert (NPV) von 96 % erreicht. (MAISEL et al., 2002., 2003).

In der „Single Center B-type Natriuretic Peptide for Acute Shortness of Breath Evaluation Study“ wurde bei einer BNP-Konzentration < 100 pg/ml Herzversagen als unwahrscheinlich angesehen, eine BNP-Konzentration > 500 pg/ml wurde als Zeichen für kongestives Herzversagen gewertet (MUELLER et al., 2004). Die unmittelbare Messung von BNP bei Einlieferung reduzierte die Notwendigkeit einer stationären Aufnahme und intensivmedizinischer Behandlung um 10 %, die Aufenthaltsdauer im Krankenhaus und die Kosten der Behandlung wurden ohne negative Auswirkungen auf die Mortalität oder die Anzahl der folgenden Klinikaufenthalte reduziert (MARK & FELKER, 2004; MUELLER et al., 2004). Dementsprechend empfiehlt die U.S. FDA einen Cut-off von 100 pg/ml zur Diagnose von kongestivem Herzversagen. Dieser Cut-off ist allerdings nicht unumstritten, da Werte zwischen 100 pg/ml und 500 pg/ml auch auf andere Ursachen zurückzuführen sind (MCCULLOUGH et al., 2003; MCLEAN et al., 2003a).

In der prospektiv durchgeführten „The N-terminal Pro-BNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) Study“ war der Untersuchungsgegenstand der Vergleich von NTpro-BNP Konzentrationen mit der klinischen Aufarbeitung zur Diagnose von akutem kongestivem Herzversagen. Eine erhöhte NTpro-BNP Konzentration war der beste Vorhersagewert einer

finalen Diagnose von akutem CHF und die Diagnose aufgrund der Messung von NTpro-BNP war derjenigen allein aufgrund klinischer Einschätzung überlegen (AUC 0,94 vs. 0,90; $p = 0,006$). Die Kombination aus beidem wiederum erzielte im Vergleich zur Biomarkermessung das bessere Ergebnis (AUC 0,96) (JANUZZI et al., 2005). In der „IMPROVE-CHF“ Studie konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die zusätzliche Messung von NTpro-BNP die Diagnose von CHF verbessert, die AUC stieg von 0,83 auf 0,90; $p < 0,00001$ (MOE et al., 2007).

Bei älteren Menschen wurde ein 2- bis 3-fach höherer BNP-Spiegel als bei jüngeren Menschen festgestellt. Bei Frauen ist BNP doppelt bis dreimal so hoch wie bei Männern (MCLEAN et al., 2003a; JANUZZI et al., 2005). Aufgrund der Einflussfaktoren Alter, Gewicht und eingeschränkte Nierenfunktion wird für NTpro-BNP einen Ausschlusswert von < 300 pg/ml und abhängig vom Alter drei verschiedenen Cut-off Werte zur Diagnose von CHF empfohlen (MAISEL et al., 2008). Für BNP hingegen muss weder das Alter noch das Geschlecht berücksichtigt werden, es wird < 100 pg/ml als Ausschlusswert und > 400 pg/ml als Cut-off empfohlen (MAISEL et al., 2008). Trotz unterschiedlicher Referenzwerte reflektiert NTpro-BNP den Schweregrad des CHF bei älteren und jüngeren Patienten in gleichem Maß. Bei Patienten mit stabilem chronischen Herzversagen hat NTpro-BNP unabhängig vom Alter dieselbe Aussagekraft bezüglich der 1-Jahres-Prognose (FRANKENSTEIN et al., 2009).

Aufgrund der Tatsache, dass chronisches Nierenversagen eine häufige Begleiterscheinung bei kongestivem Herzversagen ist und für eine zusätzliche Erhöhung der BNP-Plasmakonzentration sorgt, muss der Grenzwert zur Diagnose von CHF bei diesen Patienten ab einer GFR < 60 ml/min angehoben werden (MCCULLOUGH et al., 2003). Es wird ein Cut-off von BNP < 200 pg/ml zum Ausschluss von CHF bei Patienten mit signifikant eingeschränkter glomerulärer Filtrationsrate und Dialysepatienten empfohlen (MCCULLOUGH & SANDBERG, 2003).

Da verschiedene Studien zeigten, dass sowohl BNP als auch NTpro-BNP bei adipösen Menschen trotz erhöhtem enddiastolischen linksventrikulären Druck erniedrigt ist, muss dies bei der Interpretation berücksichtigt werden (MEHRA et al., 2004; WANG et al., 2004b; DAS et al., 2005; KRAUSER et al., 2005; DANIELS et al., 2006; TAYLOR et al., 2006). Für BNP werden bei adipösen Patienten unterschiedliche Cut-off-Werte empfohlen (DANIELS et al., 2006; HORWICH et al., 2006). Für NTpro-BNP hingegen ergab eine Analyse der

„ICON“ Studie, dass die Ausschlusswerte unabhängig vom BMI gleich zu verwenden sind (BAYES-GENIS et al., 2007).

Auch bei anderen kardialen Krankheiten zeigen die natriuretischen Peptide diagnostische Relevanz. Patienten mit zentraler pulmonärer Embolie wiesen in einer Studie eine NTpro-BNP-Konzentration über 500 ng/l auf, ebenso alle Patienten der Studie, die aufgrund einer zentralen oder peripheren pulmonären Embolie verstarben (ALONSO-MARTINEZ et al., 2009). BNP und NTpro-BNP wurden auch bezüglich der Eignung von Spenderherzen zur Transplantation untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass geeignete Spender geringere Konzentrationen an natriuretischen Peptiden aufwiesen als ungeeignete (AMIR et al., 2009). Ein 10-facher Anstieg von NTpro-BNP besitzt einen NPV von 95 % für die Diagnose einer Abstoßungsreaktion (International Society of Heart and Lung Transplantation = ISHLT Grad 2 oder höher) (KITTLESON et al., 2009). Aufgrund seines exzellenten negativen prädiktiven Wertes von bis zu 100 % wird NTpro-BNP zum Ausschluss einer asymptomatischen linksventrikulären Dysfunktion bei Patienten mit Diabetes oder Hypertension empfohlen (BETTI et al., 2009). NTpro-BNP wurde auch bezüglich der Kardiotoxizität von Doxorubicin untersucht. Erhöhte NTpro-BNP Konzentration in Zusammenhang mit reduzierter linksventrikulärer Ejektionsfraktion deuteten auf den Beginn einer subklinischen akuten Anthracyclin-induzierten Kardiomyopathie hin (CIL et al., 2009). Zudem wiesen steigende NTpro-BNP-Spiegel bei den Patienten auf ein erhöhtes Risiko hin, eine durch Anthrazykline induzierte Kardiomyopathie zu entwickeln (CIL et al., 2009).

In der Kinder- und Jugendmedizin werden BNP und NTpro-BNP ebenfalls intensiv erforscht und es wurden eigene Referenzwerte erstellt (BEHERA et al., 2009). NTpro-BNP kann die Plazenta nicht passieren, daher wird der Plasmaspiegel des Ungeborenen von dem der Mutter nicht beeinflusst. Im Nabelschnurblut von Neonaten mit kongenitalem Herzdefekt war NTpro-BNP signifikant erhöht und stieg in der ersten Lebenswoche weiter an (LECHNER et al., 2009). Bei Patienten mit chirurgisch korrigierter Fallot'schen Tetralogie korrelierte BNP signifikant mit dem rechtsventrikulären Volumen und konnte als Hilfsmittel zur Bestimmung des optimalen Zeitpunkts für einen Pulmunalklappenersatz herangezogen werden (KOCH et al., 2009b). Beginnende rechtsventrikuläre Dysfunktion bei Erwachsenen konnte mit BNP allerdings nicht sicher erkannt werden (APITZ et al., 2009). Zur Diagnose von diastolischem

Herzversagen bei jungen Patienten mit chronischer Dyspnoe erreichte BNP bei einem Cut-off von 31 pg/ml eine Sensitivität von 67 % und Spezifität von 73 % (AUC 0,76; $p = 0,007$) (ARQUES et al., 2009).

Neueste Studien bezüglich BNP und Arrhythmien zeigen, dass bei Kindern und Jugendlichen mit hochgradigem AV-Block der BNP-Plasmaspiegel erhöht ist und der Verlust der atrioventrikulären Synchronizität zu einem weiteren Anstieg von BNP führt (KOCH et al., 2009a). Nach Myokardinfarkt können erhöhte BNP-Konzentrationen bei Patienten mit erhaltener linksventrikulären systolischen Funktion auf intraventrikuläre Überleitungsstörungen hinweisen (CIURASZKIEWICZ et al., 2009a, 2009b). Bei erwachsenen Patienten mit paroxysmale Vorhofflimmern war BNP erhöht (KAJI et al., 2009). Patienten mit Arrhythmien, die eine Defibrillation notwendig machten, hatten signifikant höhere NTpro-BNP Spiegel als solche, deren Defibrillator nicht intervenieren musste (ARNALDO et al., 2009). Gleiches galt für Patienten mit kardial bedingten Synkopen und Patienten, die aufgrund dessen eine interventionelle Therapie benötigten (PFISTER et al., 2009).

Wenngleich sich die humanmedizinische Forschung auf (NTpro-)BNP konzentriert, so wurde von POTOCKI und Mitarbeitern (2009) eine neue Studie zu ANP veröffentlicht. Sie verglichen in ihrer Studie „midregional proANP“ (MRproANP) mit NTpro-BNP bei Patienten mit kardialer und nichtkardial bedingter Dyspnoe. Die AUC betrug für MRproANP und NTpro-BNP jeweils 92 %. Außerdem zeigte MRproANP zusätzliche diagnostische Relevanz bei BNP Konzentrationen im Graubereich zwischen 100 und 500 pg/ml (POTOCKI et al., 2009).

2.4.1.2. Prognose

Zahlreiche Studien haben die prognostische Relevanz von (NTpro-)BNP bewiesen und gezeigt, dass erhöhte (NTpro-)BNP Konzentrationen bei Patienten mit Herzversagen und akutem Koronarsyndrom mit einer erhöhten Mortalität einhergehen, unabhängig von Alter, NYHA-Klasse, vorangegangenen Myokardinfarkten oder linksventrikulärer Ejektionsfraktion (TSUTAMOTO et al., 1999; DE LEMOS et al., 2001, 2003; BERGER et al., 2002; RICHARDS et al., 2003; ANG et al., 2009; BRUDER et al., 2009; SANDHU et al., 2009). Bei Patienten mit Hypertension und erhöhter linksventrikulärer Masse ist NTpro-BNP ein

unabhängiger Marker für die Überlebenszeit (GARCIA et al., 2009). Erhöhte BNP-Spiegel sind beim akuten Koronarsyndrom mit einer schlechten Prognose assoziiert (ANG et al., 2009; COPPOLA et al., 2009). Dabei hatten Patienten mit einem persistierend hohen BNP ein höheres Risiko für kardiovaskuläre Komplikationen als solche, deren initial hoher BNP-Spiegel nach sieben Wochen gefallen ist (ANG et al., 2009). Beim akuten Koronarsyndrom können BNP-Spiegel kardiovaskuläre Komplikationen innerhalb der folgenden zehn Monate prognostizieren, unabhängig von echokardiographischen Veränderungen wie linksventrikulärer Hypertrophie. Ein zusätzlicher Test sieben Wochen nach dem Myokardinfarkt verbesserte die Einschätzung des individuellen Risikos erheblich (ANG et al., 2009). NTpro-BNP korreliert eng mit der Infarktgröße (BRUDER et al., 2009). Patienten mit akutem Brustschmerz unklarer Genese ohne ST-Segment-Erhöhung und einem BNP-Wert > 101 pg/ml bei Einlieferung hatten eine 13-fach erhöhte Mortalitätsrate nach einem Monat und eine 5,3-fache Mortalitätsrate nach einem Jahr (BASSAN et al., 2009). Da sich BNP in dieser Studie als starker unabhängiger prognostischer Marker darstellte, empfehlen die Autoren zur Risikoeinschätzung die Messung von BNP bei allen Patienten mit oben genannten Symptomen (BASSAN et al., 2009). Ähnliche Ergebnisse wurden für NTpro-BNP erzielt (KHAN et al., 2009; KWON et al., 2009). KHAN und Mitarbeiter (2009) empfehlen dessen Verwendung zusätzlich zum „The GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) Risk Score“ zur Vorhersage der Kurz- und Langzeitmortalität. SANDHU und Mitarbeiter (2009) allerdings postulieren, dass serielle NTpro-BNP Messungen den Einzelmessungen überlegen seien, um das Mortalitätsrisiko vorherzusagen. Bei Patienten mit klinisch stabiler Koronarerkrankung ohne Anzeichen für beginnendes Herzversagen gibt die asymptotische Erhöhung von NTpro-BNP > 862 pmol/l bereits signifikante Hinweise bezüglich der Gesamtmortalität (MAYER et al., 2009). Auch das angiographisch darstellbare „no reflow“-Phänomen nach Stentimplantation bei Patienten mit Myokardinfarkt kann anhand erhöhter BNP-Spiegel vorhergesagt werden (JEONG et al., 2009). Es wurde ein Zusammenhang zwischen erhöhtem BNP und dem Risiko eines später auftretenden Herzinfarkts bei Männern in der Gesamtpopulation gefunden (TAKAHASHI et al., 2009).

BNP korreliert auch positiv mit dem funktionellen kardialen Status bei Kindern mit pulmonärer Hypertension (LAMMERS et al., 2009). Allerdings hat der BNP-Spiegel hier nur eine limitierte Sensitivität von 57 % für die Prognose eines

frühzeitigen Todes oder die Notwendigkeit einer Transplantation (LAMMERS et al., 2009). Sowohl hohe Basiswerte als auch weitere Erhöhung von BNP sind starke Hinweise für Komplikationen bei Patienten mit fortgeschrittenem Herzversagen, die auf eine Transplantation warten (CAMPANA et al., 2009). Der prozentuale BNP-Anstieg zeigte sich als konsistenter Vorhersagewert für eine Abstoßungsreaktion mit einem NPV von 97 % bei einem Cut-off von $< +38$ % (GARRIDO et al., 2009).

In der Herzchirurgie bekommt (NTpro-)BNP als prognostischer Marker immer mehr Bedeutung. FELLAHI und Mitarbeiter (2009) empfehlen die parallele Messung von kardialem Troponin I, BNP und CRP zur Verbesserung der Risikobeurteilung des Langzeit-Outcome post OP. Andere Autoren hingegen kommen zu dem Ergebnis, dass (NTpro-)BNP allein einen unabhängiger prognostischer Marker für die Mortalität nach verschiedenen gefäßchirurgischen Eingriffen oder für postoperatives Herzversagen nach Klappenersatz darstellt; ebenso für perioperative Komplikationen bei elektiven nicht kardialen Eingriffen (HUTFLESS et al., 2004; NOZOHOR et al., 2009; OSCARSSON et al., 2009; SCHOUTEN et al., 2009). Die Kombination von high-sensitiv C-reaktivem Protein (hsCRP) mit BNP respektive NTpro-BNP bei der Beurteilung des individuellen Risikos stellte sich in zwei Studien als überlegen heraus; nach akutem Koronarsyndrom zur Vorhersage von CHF und Mortalität, bei Patienten mit nichtkardialer Gefäßchirurgie zur Prognose von kardialen Komplikationen (GOEI et al., 2009; SCIRICA et al., 2009). Die Ergebnisse des „Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure (CORONA)“ hingegen zeigen, dass log NTpro-BNP substantielle prognostische Informationen bezüglich des Outcomes liefert, hsCRP dagegen nicht (WEDEL et al., 2009). Bei Patienten mit kardiogenem Schock hatte NTpro-BNP allein eine prognostische Signifikanz bezüglich der Mortalität innerhalb von 30 Tagen, in Kombination mit Interleukin-6 (IL-6) allerdings die höhere Aussagekraft (JARAI et al., 2009a).

Die NTpro-BNP-Konzentration zeigte sich bei Patienten nach Katheterablation als unabhängiger prädiktiver Faktor für wiederholtes Vorhofflimmern und korrelierte signifikant mit dem linksatrialen Volumenindex, der deceleration time (DT), dem frühen diastolischen Einfluß (E) sowie E/E' (HWANG et al., 2009).

Laut KUBANEK und Mitarbeitern (2009) eignen sich NTpro-BNP Messungen, dargestellt als log NTpro-BNP, nach der optimalen Einstellung der Pharmakotherapie als Verlaufskontrollen bei Patienten mit kongestivem

Herzversagen besser zur Prognose der Mortalität oder kardialen Komplikationen als Eingangswerte, Konzentrationsveränderungen oder andere konventionelle Untersuchungsmethoden. Das Ergebnis des „Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET)“ zeigt, dass Patienten mit CHF, die unter der Behandlung mit β -Blockern NTpro-BNP-Werte < 400 pg/ml erreichten, eine gute Prognose bezüglich der Mortalität hatten (OLSSON et al., 2007). Auch Patienten mit schwerem akuten dekompensierten Herzversagen hatten eine längere 31-Tage und 180-Tage Überlebenszeit, wenn ihr BNP Spiegel mit Levosimendan oder Dobutamin um wenigstens 30 % gesenkt werden konnte (COHEN-SOLAL et al., 2009). NTpro-BNP wurde auch bei Patienten mit peripherer artherosklerotischer Erkrankung (peripheral arterial disease, PAD) untersucht. Dabei war eine NTpro-BNP Serumkonzentration > 213 ng/l ein guter prognostischer Faktor für die 5-Jahres Mortalität (MUELLER et al., 2009).

Nicht in alle Studien indizierten gesunkene BNP-Spiegel ein besseres Outcome. MILLER und Mitarbeiter (2007) zeigten, dass ein Anstieg der BNP-Konzentration über den Normalwert – egal zu welchem Zeitpunkt der Studie – mit einem schlechten Outcome assoziiert war. Weitere Veränderungen (sowohl Anstieg als auch Abfall) der BNP-Konzentration hatten keinen weiteren Einfluss (MILLER et al., 2007). „The Trial of Intensified vs. Standard Medical Therapy in Elderly Patients With Congestive Heart Failure (TIME-CHF)“ ergab, dass bei Patienten über 75 Jahren die NTpro-BNP gestützte Therapie keinen positiven Effekt auf das Outcome und die Lebensqualität hat (PFISTERER et al., 2009).

Der Hydratationszustand der Patienten sollte bei der Interpretation der NP-Konzentration berücksichtigt werden. Je niedriger die NP-Werte im optivolämischen Zustand eines Patienten sind, desto niedriger ist das Mortalitäts- und Rehospitalisierungsrisiko (LOGEART et al., 2002; DOKAINISH et al., 2005). Laut MAISEL und Mitarbeitern (2008) sollten (NTpro-)BNP sowohl bei Einweisung als auch bei Entlassung, wenn ein optivolämischer Zustand erreicht worden ist, gemessen werden; ein BNP Spiegel $< 350 - 400$ pg/ml oder NTpro-BNP < 4000 pg/ml bei Entlassung unter Voraussetzung eines optivolämischen Zustandes weisen auf einen stabilen weiteren Verlauf hin.

2.4.1.3. Monitoring

ACE-Hemmer, Angiotensin-Rezeptor-Blocker, Spironolacton und wahrscheinlich die Langzeit-Anwendung von β -Blockern (initial erhöhen β -Blocker die NP-Spiegel!) führen zur Erniedrigung der Plasmakonzentration der natriuretischen Peptide (YOSHIMURA et al., 1993, 2002; KAWAI et al., 2001; TSUTAMOTO et al., 2001; OLSSON et al., 2007). Ob sich diese Effekte klinisch nutzbar machen lassen, ist Gegenstand vieler Untersuchungen. Die Voraussetzung für die Interpretation von NP-Plasmakonzentrationen ist die Berücksichtigung der biologischen Variabilität. Eine Veränderung des NP-Plasmaspiegels ohne Veränderung des klinischen Zustandes kann zum einen auf die biologische individuelle Variabilität zurückzuführen sein, zum anderen kann sie die Folge von kardialen oder renalen Funktionsveränderungen sein, die noch symptomlos respektive klinisch nicht nachweisbar sind. Es wurden sowohl für BNP als auch für NTpro-BNP große Reference Change Values (RVK) von 40 – 130 % nachgewiesen (BRUINS et al., 2004; WU, 2006; O'HANLON et al., 2007; TAKEDA et al., 2009). Welche BNP-Spiegel eine erfolgreiche Therapie reflektieren, wird kontrovers diskutiert. TROUGHTON und Mitarbeiter (2000) intensivierten bei einer BNP-Konzentration > 200 pmol/l die Therapie und konnten zeigen, dass in dieser Gruppe sowohl die erste Komplikation später auftrat als auch insgesamt ein Rückgang der kardiovaskulären Komplikationen zu verzeichnen war. „The STARS-BNP Multicenter Study“ konnte zeigen, dass mit einem hauptsächlich durch ACE-Hemmer und β -Blockern erreichten Zielwert von $\text{BNP} < 100$ pg/ml die Klinikaufenthalte und die durch kongestives Herzversagen verursachte Todesfälle im Vergleich zur Therapie nach konventionellen Richtlinien reduziert werden (JOURDAIN et al., 2007). Die Autoren diskutieren 300 pg/ml als besser erreichbares und trotzdem ausreichendes Therapieziel, auch vor dem Hintergrund, dass hohe Dosen an Diuretika ein schlechtes Outcome begünstigen können (JOURDAIN et al., 2007). Im „Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET)“ hatten Patienten, die unter Behandlung mit einem β -Blocker ein NTpro-BNP < 400 pg/ml aufwiesen, eine sehr gute Prognose (OLSSON et al., 2007). Andere Autoren hingegen präferieren die individuelle Interpretation der jeweiligen BNP Konzentration. SHAH und Mitarbeiter (2005) definieren bei Patienten mit kongestivem Herzversagen den BNP-Spiegel bei Entlassung als weiterhin zu erreichendes Therapieziel, da zu diesem Zeitpunkt der Krankheitszustand optimal eingestellt wurde und Erhöhungen für erhöhte

Volumenüberladung sprechen. Im „Valsartan Heart Failure Trial“ und den „CARE-HF“ Studien konnte gezeigt werden, dass die Veränderungen des BNP-Spiegels über den Zeitraum der pharmakologischen oder interventionellen Behandlung die Morbidität und die Mortalität besser voraussagen als initiale Werte (ANAND et al., 2003; FRUHWALD et al., 2007; MILLER et al., 2007; COHEN-SOLAL et al., 2009).

NPs erzielten in mehreren Studien gute Ergebnisse zur Beurteilung der Therapie mit β -Blockern und ACE-Hemmern (RICHARDS et al., 1999; KAWAI et al., 2001; YOSHIMURA et al., 2002; OLSSON et al., 2007). Bei der dilatativen Kardiomyopathie konnten Veränderungen der linksventrikulären Funktion und Struktur verfolgt werden (KAWAI et al., 2001; TIGEN et al., 2008). Bei Neonaten mit PDA konnte anhand BNP-kontrollierter Therapie die Dosis von Indomethacin ohne Erhöhung der Morbidität gesenkt werden (ATTRIDGE et al., 2009). Plasmaspiegel können sowohl zur Beurteilung der globalen funktionellen Kapazität als auch der myokardialen spezifischen Arbeitskapazität bei Menschen mit Herzversagen herangezogen werden (NORMAN et al., 2009).

Auch auf der Intensivstation kann die Bestimmung von (NTpro-)BNP sinnvoll sein. So kann bei Intensivpatienten anhand der NP-Konzentrationen eine kardiale Dysfunktion erkannt werden, allerdings gelten hier höhere Ausschlusswerte (MAISEL et al., 2008). NPs können Hinweise zur Unterscheidung von kardial und nicht kardial bedingtem Lungenödem liefern (MCLEAN et al., 2003b; KARMPALITIS et al., 2007) und die Entscheidung bezüglich der Extubation unterstützen (PHUA et al., 2005; MEKONTSO-DESSAP et al., 2006). Allerdings sind NPs sowohl bei schwerer Sepsis, septischem Schock als auch kardiogenem Schock erhöht und können den Pulmonalvenendruck (PCWP) unter diesen Umständen nicht zuverlässig repräsentieren (CHARPENTIER et al., 2004; TUNG et al., 2004; FORFIA et al., 2005).

NP-Spiegel reflektieren auch die diastolische Wandspannung, die sowohl bei Volumenüberladung als auch bei Dilatation des linken Ventrikels erhöht ist (IWANAGA et al., 2006). Daher könnten Serienmessungen in Kombination mit klinischen Untersuchungen eine Möglichkeit darstellen, die Wirksamkeit der Therapie bezüglich des linksventrikulären Remodelings zu beurteilen (IWANAGA et al., 2006; NOHRIA & GIVERTZ, 2006). Bei Patienten mit pulmonärer Hypertension (PH) reflektierte die Konzentration von NTpro-BNP die im MRT darstellbare rechtsventrikuläre Struktur und Funktion (GAN et al., 2006).

Der Anstieg von NTpro-BNP zeigt ebenso die rechtsventrikuläre Dilatation in Folge von Hypertrophie und Verschlechterung der systolischen Funktion an (GAN et al., 2006).

2.4.1.4. Therapie

In einer Studie an gesunden Hunden und Hunden mit induziertem Herzversagen konnte gezeigt werden, dass die Infusion mit natriuretischen Peptiden Auswirkungen auf die Nachlast, die Vorlast, die systolische und diastolische Funktion sowie die cGMP Produktion hat (LAINCHBURY et al., 2000). Dabei ergaben sich bei den Hunden im Herzversagen folgende signifikante Ergebnisse: ANP und BNP senkten das endsystolische Volumen, der endsystolische Druck wurde nur durch BNP gesenkt; ANP senkte das enddiastolische Volumen, ANP und BNP senkten den enddiastolischen Druck; ANP, BNP und CNP senkten die wirksame Dehnungssteifigkeit (operant stiffness); die Rate der linksventrikulären Relaxation, gemessen als die Zeitkonstante des isovolumetrischen Abfalls des linksventrikulären Drucks (τ), wurde von ANP und BNP reduziert; ANP und BNP erhöhten cGMP (LAINCHBURY et al., 2000). Grundsätzlich wirkt cGMP positiv inotrop, was bei gesunden Hunden nachweisbar war (LAINCHBURY et al., 2000). Auch wenn dieser Effekt im Herzversagen verloren geht, so ist bezüglich der Therapie mit NPs interessant, dass die natriuretischen Peptide die Inotropie definitiv nicht negativ beeinflussen (LAINCHBURY et al., 2000).

Nesiritide (BNP 1 – 32), ein synthetisches, rekombinantes humanes BNP, wurde bezüglich seiner Eignung zur Therapie von kongestivem Herzversagen evaluiert (HOBBS & MILLS, 1999; MILLS et al., 1999; COLUCCI et al., 2000; COLUCCI, 2001; JEFFERIES et al., 2006, 2007; HERNANDEZ et al., 2009; TONG & ROZNER, 2009). Intravenös appliziertes BNP führte dosisabhängig zu einer Erhöhung des cGMP-Spiegels und Verminderung von Aldosteron, Renin, Endothelin-1 und Noradrenalin im Plasma (ARONSON & BURGER, 2002; JEFFERIES et al., 2007; CHEN et al., 2009b). COLUCCI und Mitarbeiter (2000) konnten in einer double-blind Placebo-kontrollierten Studie zeigen, dass die kurzzeitige intravenöse Infusion von Nesiritide einen signifikanten dosisabhängigen Effekt auf den Lungenvenendruck hat. Die beiden mit Nesiritide behandelten Gruppen zeigten einen Abfall des Lungenvenendrucks im Mittel um 6 respektive 9,6 mmHg im Gegensatz zur mit Placebo behandelten Gruppe, in der

der Lungenvenendruck im Mittel um 2 mmHg stieg. Statistisch signifikant waren auch die Reduzierung des rechtsatrialen Drucks, des systemischen Gefäßwiderstands und die Steigerung des kardialen Index. Bei den mit Nesiritide behandelten Gruppen war eine Reduzierung der Dyspnoe sowie die Verbesserung des gesamten klinischen Zustands zu verzeichnen, dies konnte auch in anderen Studien gezeigt werden (COLUCCI et al., 2000; COLUCCI, 2001; O'DELL et al., 2005; JEFFERIES et al., 2006; TONG & ROZNER, 2009). Auch bei Kindern mit dilatativer Kardiomyopathie führte die Applikation von Nesiritide zu einem Abfall des Lungenvenendrucks, des systolischen arteriellen Blutdrucks und des mittleren Pulmonalarteriendrucks (MPAP) (BEHERA et al., 2009).

Nesiritide verbessert die Nierenfunktion (JEFFERIES et al., 2006; MENTZER et al., 2007). Im Vergleich zu einer mit Standardtherapie und einem üblichen vasoaktivem Medikament (Nitroglyzerin, Nitroprussid) behandelten Gruppe waren bei den mit Nesiritide behandelten Patienten bei gleichem Gewichtsverlust weniger intravenös zugeführte Diuretika nötig (COLUCCI et al., 2000). Im Gegensatz zu Nitroglyzerin tritt die vasodilatative Wirkung schneller ein (≤ 15 min), bei Nitroglyzerin ist außerdem bereits innerhalb 24 Stunden eine Toleranzentwicklung zu verzeichnen (ELKAYAM et al., 2004). Dies zeigt, dass Nesiritide sowohl ein potenter venöser als auch arterieller Vasodilatator ist, der die kardiale Hämodynamik schneller und in größerem Ausmaß verbessert als konventionelle Vasodilatoren, zudem mit geringeren Nebenwirkungen (HOBBS & MILLS, 1999; COLUCCI et al., 2000; COLUCCI, 2001; KHUSH et al., 2006; MENTZER et al., 2007). Dieser Effekt erstreckt sich auch auf die Koronararterien, mit daraus resultierendem Abfall des koronaren Perfusionsdrucks, Reduzierung des koronaren Widerstands, Zunahme des Blutflusses und Verminderung des myokardialen Sauerstoffverbrauchs (MICHAELS et al., 2003). Weniger konventionelle Diuretika wurden auch bei postoperativer Applikation von humanem ANP (hANP) benötigt, der renale Blutfluss, das Urinvolumen und die Kreatinin-Clearance wurden signifikant gesteigert (MITAKA et al., 2003, 2008; SWARD et al., 2004). Allerdings kann es im Herzversagen zu einer renalen Resistenzentwicklung kommen (WANG et al., 2004a; CHEN et al., 2009a). An einem Hundemodell konnte gezeigt werden, dass die lokale renale Applikation im Gegensatz zu systemisch verabreichtem BNP größere natriuretische und diuretische Effekte induzierte und somit dieses Phänomen umgangen werden kann (CHEN et al., 2009a). Die Auswirkungen von Nesiritide bei Patienten mit CHF

auf die Nierenfunktion werden kontrovers diskutiert. In einer randomisierten, double-blind Placebo-kontrollierten Studie konnte keine Beeinträchtigung der Nierenfunktion festgestellt werden (WITTELES et al., 2007), wogegen SACKNER-BERNSTEIN und Mitarbeiter (2005) eine signifikante Erhöhung des Risikos einer Verschlechterung der Nierenfunktion postulieren. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass Nesiritide bei Patienten mit CHF und gleichzeitig vorhandener renaler Dysfunktion das Risiko für ein akutes Nierenversagen erhöht (IGLESIAS et al., 2006; DONTAS et al., 2009). Diuretika-induzierte Natriurese kann mit einer reduzierten glomerulären Filtrationsrate und Aktivierung des RAAS-Systems einhergehen. Im Gegensatz dazu maximiert bei Hunden mit CHF die kombinierte intravenöse Applikation von Furosemid und BNP sowohl Diurese als auch Natriurese, steigert die glomeruläre Filtrationsrate und hemmt die Aktivierung von Aldosteron (CATALIOTTI et al., 2004).

Die Behandlung mit BNP nach einer persistierenden Ischämie führte bei Hunden zu einer Erhaltung der linksventrikulären Geometrie (die linksventrikulären Dimensionen waren signifikant kleiner als in Kontrollgruppe) sowie einer besseren systolischen Funktion und wirkte der Verschlechterung des systolischen Herzversagens entgegen (GEORGE et al., 2009). Bei Ratten mit myokardialen Infarkt wirkte die Infusion mit BNP sowohl dem ventrikulären Remodeling durch Verminderung der myokardialen Kollageneinlagerung als auch der Verschlechterung der kardialen Funktion dosisabhängig entgegen (HE et al., 2009). In einem Schweinmodell mit Koronararterienverschluss verminderte Nesiritide Myokardschäden (LAZAR et al., 2009). Nesiritide induziert nicht nur unmittelbare Effekte während der Infusion. Patienten mit akutem anterioren Myokardinfarkt wurden 72 Stunden niedrig dosiert mit BNP infundiert und zeigten auch einen Monat später eine verbesserte LVEF und ein geringeres endsystolisches linksventrikuläres Volumen (HILLOCK et al., 2008; CHEN et al., 2009b).

Im Gegensatz zu Dobutamin mit seinem proarrhythmischen und chronotropen Potential bewirkt Nesiritide weder eine Erhöhung der Herzfrequenz noch begünstigt es Arrhythmien (BURGER et al., 2001, 2002, 2003). Niedrig dosierte Therapie mit Nesiritide verbessert eine mit CHF oft einhergehende eingeschränkte Herzfrequenzvariabilität und die parasymphatische Modulation, wogegen Dobutamin und hoch dosiertes Nesiritide zu einer weiteren Verschlechterung der autonomen Dysregulation führen kann (ARONSON & BURGER, 2004).

Neben der intravenösen Applikation wurden auch konjugierte Formen von humanem BNP entwickelt, die subkutan und oral verabreicht werden können und die im Hundemodell nachweislich cGMP aktivieren sowie blutdrucksenkend wirken (CATALIOTTI et al., 2005, 2008). Der Effekt von Nesiritide auf die Mortalität bei kongestivem Herzversagen ist noch nicht eindeutig geklärt. SILVER und Mitarbeiter (2002) konnten eine reduzierte Mortalität innerhalb von sechs Monaten nachweisen, STYRON und Mitarbeiter (2009) fanden keinen Unterschied verglichen mit alleiniger Standardtherapie. „The Acute Study of Clinical Effectiveness of Nesiritide in Decompensated Heart Failure trial (ASCEND-HF)“, in die 7000 Patienten eingeschlossen werden, soll bis 2010 diese Frage klären (HERNANDEZ et al., 2009).

2.4.2. Veterinärmedizin

Zur Bestimmung von natriuretischen Peptiden in der Veterinärmedizin kamen verschiedene Tests zum Einsatz, unter anderem liegen Studien zur Validierung von Radioimmunoassays (RIA) zur Bestimmung von BNP und ELISAs zur Bestimmung von proANP 31 – 67, NTpro-ANP und NTpro-BNP vor (BOSWOOD et al., 2003, 2008; TIETGEN, 2004; CONNOLLY et al., 2008a; SCHELLENBERG et al., 2008; FOX et al., 2009). Der in vorliegender Dissertation verwendete ELISA VETSIGNTM Canine CardioSCREEN Ntpro-BNP, Guildhay Ltd., UK wurde von BOSWOOD und Mitarbeitern (2008) sowie ZIEBA und Mitarbeitern (2008) validiert. Ersterer untersuchte sowohl EDTA Plasma- als auch Serumproben, wobei die Bestimmung von NTpro-BNP im Plasma bessere Werte ergab (BOSWOOD et al., 2008). Für die Intra-Assay-Präzision der Plasmaproben ergaben sich Variationskoeffizienten (VK) von 6,4 %, 8,4 % und 7,1 % für niedrige, mittlere und hohe Konzentrationen, die Inter-Assay-Präzision lag jeweils bei 7,1 %, 8,6 % und 8,2 %. In der zweiten Studie wurde bei der Untersuchung der Intra-Assay-Präzision ein VK von 4 – 8 % für Konzentrationen > 800 pmol/l ermittelt, bei Konzentrationen < 800 pmol/l lag der VK zwischen 12 – 20 %. Bei 28 pmol/l betrug der VK 141% (ZIEBA et al., 2008). Die Inter-Assay-Präzision ergab VK Werte von 7,5 % für Konzentrationen > 800 pmol/l und 16 % für niedrigere Konzentrationen (ZIEBA et al., 2008). Die Evaluierung der Standardkurve ergab eine Differenz zwischen unverdünnten und verdünnten Werten von 40 % für die hohen Konzentrationen und 20 % für die

niedrige Konzentrationen (ZIEBA et al., 2008). Aufgrund der Abflachung der Standardkurve bei kürzeren Inkubationszeiten empfehlen die Autoren eine Mindestinkubationszeit von sieben Stunden (Empfehlung des Herstellers: 24 Stunden) (ZIEBA et al., 2008).

Das System der natriuretischen Peptide hat sich allerdings als komplexer erwiesen als anfangs angenommen. Bei Patienten im Herzversagen werden pro-BNP-Präkursormoleküle teilweise nicht durch Furin oder Corin gespalten, sondern intakt sezerniert, zudem wurden auch glykolisierte Formen gefunden (SISSON, 2009). Außerdem werden die C-terminalen, biologisch aktiven Formen der NPs sowie NTpro-ANP und NTpro-BNP durch eine Reihe von Peptidasen bei ihrem Abbau in verschiedene Bruchstücke gespalten, die ebenfalls noch intakte Epitope tragen, welche von den spezifischen Antikörpern der Tests erkannt werden (BOERRIGTER et al., 2009; SISSON, 2009). SISSON (2009) nimmt an, dass bei Patienten im Herzversagen mit hohen BNP-Spiegeln die Mehrheit des immunologisch gemessenen C-terminalen BNPs das inaktive Präkursormolekül pro-BNP sein könnte; es läge dann real ein BNP-Defizit vor, was wiederum eine Erklärung für die bisher angenommene Resistenz bezüglich BNP bei Patienten im Herzversagen sein könnte. Er verweist dabei unter anderem auf folgende Studien aus der Humanmedizin: TAMM und Mitarbeiter (2008) entwickelten eine Einzel-Epitop Sandwich-Immunofluoreszenz-Assay Technik, womit BNP und proBNP sowie deren Fragmente identifiziert werden können. NIEDERKOFLEDER und Mitarbeiter (2008) konnten mittels eines quantitativen Massenspektrometer-Immunoassays mit hochaffinen Antikörpern zeigen, dass Patienten im Herzversagen niedrige BNP 1 – 32-Spiegel aufwiesen: 25 – 43 pg/ml vs. 900 – 5000 pg/ml gemessen mit dem gängigen Biosite Assay.

Auch das Probenhandling muss beachtet werden, wie die Studie von FARACE und Mitarbeiter (2008) gezeigt hat. Um den frühzeitigen Abbau in Blutproben zu verhindern, kann man entweder Protease-Inhibitoren oder EDTA zugeben sowie die Temperatur kontrollieren. Durch Erniedrigung der Temperatur wird die Aktivität der Proteasen reduziert. In dieser Studie wurden Blutproben bei -60, 4, 25 und 37°C analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass NTpro-ANP keine oder nur geringfügige Veränderungen nach 3 – 5 Stunden bei 37 °C aufwies und NTpro-BNP nur in einem Teil der Proben gesunken war (FARACE et al., 2008). Nach 23 – 25 Stunden war in allen Proben bei 37 °C mindestens 25 % NTpro-ANP bzw. 50 % NTpro-BNP abgebaut. Daher empfehlen die Autoren, die

Plasmaproben mit Kühlaggregaten zu versenden, damit eine durchgehende Temperatur von maximal 4 °C gewährleistet ist (FARACE et al., 2008).

2.4.2.1. ANP

Die Nukleotid- und Aminosäuresequenz von ANP wurde für etliche Spezies evaluiert, unter anderem für die Ratte (KANGAWA et al., 1984b; NAKAYAMA et al., 1984), Hund und Hase (OIKAWA et al., 1985), Rind (VLASUK et al., 1986), Schwein (MAGERT et al., 1990), Pferd (RICHTER et al., 1998), Schaf (AITKEN et al., 1999) und Katze (BIONDO et al., 2002). Dabei beträgt die Homologie zwischen den einzelnen Spezies für das Präprohormon, ProANP, C-terminales ANP (ANP-30) und NTpro-ANP zwischen 48 % und 100 % (felines, equines, bovines und ovines ANP-30 sind identisch) (BIONDO et al., 2002). Bereits in den 90er Jahren wurde festgestellt, dass bei Rindern mit bakterieller Endokarditis und DCM sowie bei Hunden mit Mitralklappenendokardiose, CHF, chronischem Nierenversagen und Infektion mit *Dirofilaria immitis* ANP signifikant erhöht ist (TAKEMURA et al., 1990, 1991a, 1991b; VOLLMAR, 1991; VOLLMAR et al., 1991, 1994; HAGGSTROM et al., 1994, 1997). ANP korreliert positiv mit dem rechtsatrialen Druck, dem linksatrialen Druck, dem maximalen Pulmonalarteriendruck und dem Pulmonalvenendruck (PCWP), der Geschwindigkeit des Pulmonalveneneinflusses, dem linksventrikulären enddiastolischen Druck, mit LA/Ao, dem linksatrialen und dem linksventrikulären Durchmesser sowie der Herzfrequenz; eine signifikante negative Korrelation lag mit dem kardialen Index und dem systolischen Index vor (TAKEMURA et al., 1991a; HAGGSTROM et al., 1994; ASANO et al., 1999b; KOIE et al., 2001; HORI et al., 2008b, 2008c). Im frühen dekompensierten Stadium ist die Renin-Angiotensin-Aldosteron-System Aktivität im Gegensatz zu ANP nicht erhöht, was durch den Anstieg der ANP-Konzentration erklärt werden könnte (HAGGSTROM et al., 1997). Bei Pferden mit Mitralklappenregurgitation ohne bereits bestehender linksventrikulärer und -atrialer Dilatation konnte kein signifikanter Unterschied der ANP-Konzentration im Vergleich zu gesunden Pferden nachgewiesen werden. Die höchsten ANP-Konzentrationen waren bei Pferden mit Mitralklappenregurgitation und gleichzeitig vorhandener atrialer sowie ventrikulärer Dilatation zu verzeichnen; diese Gruppe wies im Mittel signifikant höhere ANP-Werte auf als die herzgesunden Pferden (GEHLEN et al.,

2007). Es wurde keine Korrelation zwischen linksatrialem oder -ventrikulärem Durchmesser, Gewicht, Geschlecht und ANP gefunden (GEHLEN et al., 2007).

Es besteht ein Zusammenhang zwischen dem Anstieg von ANP und der Schwere der Symptomatik und des kongestiven Herzversagens, den NYHA-Klassen sowie dem Plasmavolumen (HAGGSTROM et al., 1994; VOLLMAR et al., 1994; ASANO et al., 1999b; KOIE et al., 2001). Die ANP-Konzentration sank mit der pharmakologisch induzierten Besserung der Symptome des Linksherzversagens, auch wenn LA/Ao gleich blieb; bei den Patienten, die auf die Medikation nicht ansprachen und später starben, stieg die ANP-Konzentration sogar erheblich an (KOIE et al., 2001). Hunde mit Herzversagen und einer Plasmakonzentration von ANP < 95 pg/ml hatten mit 1095 Tagen eine signifikant höhere Überlebenszeit als jene mit ANP > 95 pg/ml (58 d) (GRECO et al., 2003). Bei Hunden mit PDA sanken die präoperativ erhöhten ANP-Spiegel nach Verschluss des PDA innerhalb von wenigen Tagen und erreichten zum Teil Normalwerte, allerdings korrelierte ANP nicht mit der Schwere der klinischen Symptome (ASANO et al., 1999a). Im Gegensatz zu BNP gab es keinen signifikanten Unterschied bezüglich der ANP-Konzentration zwischen Golden Retrievern mit durch muskuläre Dystrophie induzierter Kardiomyopathie und der gesunden Kontrollgruppe und kann diesbezüglich nicht als Marker zur Erkennung einer okkulten Kardiomyopathie genutzt werden (CHETBOUL et al., 2004). Beim Dobermann war ANP im okkulten Stadium signifikant erhöht, Geschlecht und Alter waren signifikante Kovariablen (O'SULLIVAN et al., 2007b).

Eine signifikante Erhöhung von ANP lag auch bei Katzen mit Kardiomyopathie im kongestivem Herzversagen und ohne Herzversagen sowie mit systemischer Thromboembolie aufgrund einer Kardiomyopathie vor (SISSON, 2003; HORI et al., 2008c). Anhand von immunhistochemischen Untersuchungen der Herzen konnte festgestellt werden, dass sowohl bei gesunden als auch an HCM erkrankten Katzen die Immunreaktivität für ANP auf die Atrien beschränkt war (BIONDO et al., 2003).

2.4.2.2. NTpro-ANP

Die NTpro-ANP Konzentration ist bei gesunden Hunden 60-fach höher als die Konzentration des C-terminalen ANPs (VOLLMAR, 1991). NTpro-ANP korrelierte signifikant mit dem Gewicht, den Nitrat- und Nitritkonzentrationen im

Plasma sowie der Konzentration von cGMP im Urin, der Größe des Regurgitationsvolumens, E/E_a , dem linksatrialen und linksventrikulären enddiastolischen und endsystolischen Index und der FS sowie der Kreatinin-Konzentration und dem Blutdruck; keine Korrelation wurde hingegen mit EDD und dem Geschlecht gefunden. Die Korrelationen mit dem Alter, der Herzfrequenz und LA/Ao werden kontrovers diskutiert (ERIKSSON et al., 2001; TIDHOLM et al., 2001; CONNOLLY et al., 2008a; LALOR et al., 2009; TARNOW et al., 2009).

Die NTpro-ANP-Konzentration stieg in einer Studie mit Cavalier King Charles Spaniel (CKCS) mit der Schwere der Mitralregurgitation an. Zwischen der Gruppe mit schwerer MR (Regurgitation ≥ 80 %) und den Gruppen gesund, minimale MR (Regurgitation < 20 %) und moderate MR (Regurgitation ≥ 20 % bis < 80 %) lagen signifikante Unterschiede vor; Hunde im Herzversagen hatten deutlich erhöhte NTpro-ANP-Werte, die sich signifikant von allen anderen Gruppen unterschieden. In dieser Studie konnte die bei Wiederholungsuntersuchungen gemessene NTpro-ANP-Konzentrationen die Progression des Regurgitationsvolumens vorhersagen (TARNOW et al., 2009). NTpro-ANP eignet sich bei Hunden zur Unterscheidung von kardial und nicht kardial bedingter Dyspnoe (PROSEK et al., 2007). Bei Hunden mit klinisch symptomatischer DCM war NTpro-ANP signifikant höher als bei Hunden mit asymptomatischer DCM und der gesunden Kontrollgruppe (TIDHOLM et al., 2001). In einer weiteren Studie lagen bei okkult an DCM erkrankten Tieren signifikant höherer Werte als in der gesunden Kontrollgruppe vor. Allerdings eignet sich laut den Autoren NTpro-ANP nicht zur Diagnose einer okkulten DCM, da Sensitivität und Spezifität nicht ausreichen (OYAMA et al., 2007).

Tabelle 2: Zusammenfassung der Cut-off Werte für NTpro-ANP beim Hund ¹(TARNOW et al., 2009), ²(PROSEK et al., 2007).

Diagnose von:	Cut-off	AUC	Sensitivität	Spezifität
¹ Schwere Mitralregurgitation	230 pmol/l	0,88	100 %	70 %
	247 pmol/l		86 %	83 %
² Dyspnoe kardial vs. respiratorisch	0,587 nmol/ml	0,95	95,5 %	84,6 %

Sowohl bei an Kardiomyopathie erkrankten Katzen ohne CHF als auch bei Katzen mit CHF (Mittelwert 1176,4 fmol/ml bzw. 1865,3 fmol/ml) waren die NTpro-ANP-Konzentrationen signifikant höher als bei gesunden Katzen (Mittelwert 682,0 fmol/ml), auch die beiden erkrankten Gruppen unterschieden sich signifikant (CONNOLLY et al., 2008a). In Tabelle 3 sind die Ergebnisse der Studien von CONNOLLY und Mitarbeitern zusammengefasst.

Tabelle 3: Zusammenfassung der Cut-off Werte für NTpro-ANP bei der Katze (CONNOLLY et al., 2008a; CONNOLLY et al., 2008b; CONNOLLY et al., 2009).

Differenzierung von:	Cut-off pmol/l	AUC	Sensitivität	Spezifität
Gesund vs. CHF	919	0,94	96,9 %	78,6 %
Gesund vs. herzkrank ± CHF	960	0,88	83,7 %	82,1 %
Gesund vs. herzkrank ohne CHF	828	0,76	76,5 %	71,1 %
Dyspnoe kardial vs. respiratorisch	986	-	93,8 %	80,3 %

NTpro-ANP war bei normotensiven Katzen mit schwerem chronischen Nierenversagen (Median 1590,2 pmol/l), im Vergleich zur gesunden Gruppe (Median 384,7 pmol/l) signifikant erhöht ($p = 0,006$), nicht aber bei normotensiven Katzen mit mild bis moderatem chronischen Nierenversagen (Median 697,0 pmol/l) und hypertensiven Katzen mit chronischen Nierenversagen (Median 1040,4 pmol/l) (LALOR et al., 2009). Nach Behandlung mit Amlodipine und daraus resultierendem Blutdruckabfall sanken weder Kreatinin noch NTpro-ANP. Die AUC zur Unterscheidung normo- vs. hypertensiv betrug nur 0,643 (LALOR et al., 2009).

2.4.2.3. ProANP 31 – 67

Das aus 98 AS bestehende NTpro-ANP wird nach seiner Freisetzung im Kreislauf in drei Fragmente gespalten: 1 – 30, 31 – 67 und 79 – 98, wobei nicht nur NTpro-ANP sondern auch seine Fragmente eine längere HWZ als ANP besitzen (ACKERMAN et al., 1992). Im Plasma liegt proANP 31 – 67 in signifikant höheren Konzentrationen als im Serum vor, beide Werte korrelieren gut miteinander (BOAG, 2003; BOSWOOD et al., 2008). Es bestand kein

signifikanter Zusammenhang mit Alter, Geschlecht und reproduktivem Status (kastriert *vs.* intakt), aber eine signifikante Korrelation mit LA/Ao und der Kreatininkonzentration (BOSWOOD et al., 2008). ProANP 31 – 67 steigt proportional zur Schwere des Herzversagens an (PIANTEDOSI et al., 2009). Bei Hunden mit chronischer Klappendegeneration gab es signifikante Unterschiede zwischen den ISACHC-Klassen I und II, I und IIIa, I und IIIb, nicht aber zwischen II und III (PIANTEDOSI et al., 2009). Zwischen den NYHA-Klassen II, III und IV gab es keine signifikanten Unterschiede (BOSWOOD et al., 2003).

Hunde mit Husten, Dyspnoe oder Aszites aufgrund kardialer Erkrankungen konnten bei einem Cut-off von 1000 fmol/ml mit einer Sensitivität von 77,8 % und einer Spezifität von 95,6 % von der gesunden Population unterschieden werden; unter Ausschluss der beiden Tiere mit Perikarderguss erreichte die Sensitivität 100 % (BOAG, 2003). Hunde im Herzversagen und gesunde Hunde konnten bei einem Cut-off von 1750 fmol/ml mit einer Sensitivität von 83,9 % und einer Spezifität von 97,5 % voneinander unterschieden werden, bei einem Cut-off von 1350 fmol/ml betrug Sensitivität und Spezifität 93,5 % bzw. 72,5 % (BOSWOOD et al., 2003). Zur Differenzierung von Hunden mit respiratorischen Erkrankungen von denen mit kardialen Krankheiten ergaben sich für Plasma-proANP 31 – 67 bei einem Cut-off von 1200 pmol/l folgende Werte: AUC = 79,3 %, Sensitivität 81,7 %, Spezifität 64,7 %; für Serum-proANP 31 – 67 bei einem Cut-off von 820 pmol/l: AUC = 85,2 %, Sensitivität 83,8 %, Spezifität 76,5 % (BOSWOOD et al., 2008).

2.4.2.4. BNP

Die Nukleotid- und Aminosäuresequenz von BNP wurde ebenfalls für verschiedene Spezies evaluiert, unter anderem für das Schwein (MAEKAWA et al., 1988), Rind (NGUYEN et al., 1989a., 1989b), Ratte (KOJIMA et al., 1989), Maus (OGAWA et al., 1994), Schaf (AITKEN et al., 1999), Hund (ASANO et al., 1999c) und Katze (LIU et al., 2002). Es existiert für das Präprohormon eine signifikante Homologie bezüglich der Gensequenz zwischen den Spezies, wobei vor allem die das biologisch aktive BNP kodierende Region stark konserviert ist (LIU et al., 2002). Basierend auf der Homologie des Präprohormons wurde festgestellt, dass innerhalb der Säugetiere Gruppen phylogenetisch engerer Verwandtschaft für dieses Gen bestehen: Maus und Ratte einerseits, Rind, Schaf

und Schwein andererseits sowie Hund und Katze (LIU et al., 2002). BNP korrelierte signifikant mit der Schwere der Herzerkrankung respektive des Herzversagens sowie mit der Größe des linken Atriums und LA/Ao (MACDONALD et al., 2003; HÄUSSLER, 2004), mit dem Pulmonalvenendruck bei Hunden mit experimentell induzierter Mitralregurgitation (ASANO et al., 1999b) und mit den ISACHC-Klassen (HÄUSSLER, 2004; DEFRANCESCO et al., 2007); in zwei Studien wurde zudem ein Zusammenhang zwischen der BNP-Konzentration und der Hunderasse gefunden (HÄUSSLER, 2004; TIETGEN, 2004). Es konnte keine Korrelation mit dem Alter, Geschlecht, Gewicht, EDD, ESD und FS festgestellt werden (ERIKSSON et al., 2001; CHETBOUL et al., 2004; HÄUSSLER, 2004; TIETGEN, 2004; DEFRANCESCO et al., 2007; OYAMA et al., 2007). Für jeden Anstieg des Plasma BNP um 10 pg/ml stieg die Mortalitätsrate innerhalb vier Monaten um circa 44 % (MACDONALD et al., 2003). Der Anstieg von BNP korrelierte signifikant mit der cGMP Konzentration bei Hunden mit MR, cGMP/BNP allerdings fiel bei Hunden im Herzversagen ab. Dies wird als Indikator für eine Resistenz gegenüber den natriuretischen Peptiden gesehen (MOESGAARD et al., 2009).

BNP steigt bei moderater bis schwerer asymptomatischer Mitralendokardiose (Mitral Valve Disease, MVD) signifikant an (MOESGAARD et al., 2009). Bei Hunden im kongestiven Herzversagen war BNP circa doppelt so hoch wie bei gesunden Hunden (HAGGSTROM et al., 2000). Es gab signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen NYHA-Klassen sowie zwischen den asymptomatischen (NYHA I + II) und den symptomatischen Hunden (NYHA III + IV) (ASANO et al., 1999b). Im Gegensatz zu ANP bestand nicht nur ein signifikanter Unterschied zwischen gesund und NYHA IV, sondern auch zwischen gesund und NYHA III für BNP (ASANO et al., 1999b). BNP wurde zur Unterscheidung von gesunden Hunden und Hunden mit MVD + CHF, sowie von kardial und nicht kardial bedingter Dyspnoe evaluiert, wie in Tabelle 4 dargestellt (MACDONALD et al., 2003; DE FRANCESCO et al., 2007; PROSEK et al., 2007).

Tabelle 4: Zusammenfassung der Cut-off Werte für beim Hund (DE FRANCESCO et al., 2007)¹, (MACDONALD et al., 2003)², (PROSEK et al., 2007)³. AUC = Area Under the Curve.

	Cut-off pg/ml	AUC	Sensitivität	Spezifität
¹ Gesund vs. MVD + CHF	23,0	-	86 %	100 %
¹ Gesund vs. MVD ohne CHF	35,0	-	86 %	70 %
² Dyspnoe kardial vs. respiratorisch	6,0	0,91	90 %	78 %
³ Dyspnoe kardial vs. respiratorisch	17,4	0,89	86,4 %	80,8 %

Bei Golden Retrievern mit durch muskuläre Dystrophie induzierter Kardiomyopathie war BNP bereits im okkulten Stadium signifikant erhöht, allerdings erreichte die Sensitivität erst unter Ausschluss der Hunde im Alter < 1 Jahr einen Wert von 78 % bei einem Cut-off von 65 pg/ml und einer Spezifität von 86 % (CHETBOUL et al., 2004). Ebenfalls signifikant erhöht war BNP bei Hunden mit okkulter DCM (OYAMA et al., 2007). Hunde mit experimentell induzierter systolischer Dysfunktion wiesen signifikant erhöhte BNP-Konzentrationen mit einem Mittelwert von 100,8 pg/ml auf (BAUMWART & MEURS, 2005).

Obwohl BNP bei Menschen mit arrhythmogener rechtsventrikulärer Kardiomyopathie (ARVC) signifikant erhöht ist, konnte bei Boxern mit ARVC (Mittelwert 11,0 pg/ml) kein Unterschied im Vergleich zu gesunden Boxern (Mittelwert 7,9 pg/ml) festgestellt werden (MATSUO et al., 1998; BAUMWART & MEURS, 2005). Bei Hunden mit PDA zeigte der Abfall des prä OP erhöhten BNP Spiegels im Gegensatz zu NTpro-ANP einen S-förmigen Verlauf: drei Tage post OP fiel er leicht ab, erreichte am Tag 10 post OP initiale Werte und sank danach wieder (ASANO et al., 1999a).

Die Immunreaktivität von BNP war wie bei ANP bei gesunden Katzen auf die Atrien beschränkt (BIONDO et al., 2003). Bei Katzen mit HCM wurde BNP-Immunreaktivität auch in ventrikulären Myozyten gefunden, die interstitiellen Kapillaren und Nervenfasern waren bei gesunden wie bei an HCM erkrankten Tieren nur für BNP positiv (BIONDO et al., 2003).

2.4.2.5. NTpro-BNP

KELLIHAN und Mitarbeiter postulierten 2008, dass die Variabilität von NTpro-BNP im wöchentlichen Vergleich bei Hunden generell niedrig ist und nur ein kleiner Prozentsatz von Hunden variable Messergebnisse aufwies. Ein Jahr später veröffentlichten dieselben Autoren eine Studie, in dem sie Ergebnisse konträr zur vorherigen vorstellten. 20 % der Studienpopulation hatten demnach Minimal- und Maximalwerte mit einem Unterschied von $> 200\text{pmol/l}$ (KELLIHAN et al., 2009). Obwohl es eine hohe individuelle Variabilität der wöchentlichen Serum- und Plasmakonzentrationen bei gesunden Hunden gab, blieb der Medianwert unverändert (KELLIHAN et al., 2009). Die Autoren bezogen in ihre Auswertungen auch mit ein, dass einige gesunde Hunde hohe Werte ausserhalb des Referenzbereichs aufwiesen, wobei sie dies insofern einschränkten, als dass kein Langzeit-Follow up durchgeführt wurde und demnach persistierend hohe Werte auch ein Indiz für später auftretende Herzerkrankungen sein könnten (KELLIHAN et al., 2009).

Es wurde eine signifikante Erhöhung von NTpro-BNP bei Hunden mit renaler Dysfunktion gefunden (SCHMIDT et al., 2008; RAFFAN et al., 2009; SCHMIDT et al., 2009). NTpro-BNP korrelierte in einigen Studien signifikant mit den Harnstoff- und Kreatininkonzentrationen (BOSWOOD et al., 2008; OYAMA et al., 2008a; SCHMIDT et al., 2009), in anderen ließ sich kein Zusammenhang herstellen (CONNOLLY et al., 2009; FOX et al., 2009; LALOR et al., 2009; RAFFAN et al., 2009). Das Alter korrelierte nur in einer Studie mit NTpro-BNP (LALOR et al., 2009), in vier Studien dagegen nicht (BOSWOOD et al., 2008; OYAMA et al., 2008a; FOX et al., 2009; TARNOW et al., 2009). Es konnte kein Zusammenhang mit dem Geschlecht oder der Konzentration von Sexualhormonen gefunden werden (BOSWOOD et al., 2008; LEACH et al., 2008; TARNOW et al., 2009), allerdings besteht ein Dissens bezüglich der Auswirkung einer Kastration auf die NTpro-BNP-Konzentration. In zwei Studien gab es keinen Unterschied (BOSWOOD et al., 2008; TARNOW et al., 2009), LEACH und Mitarbeiter (2008) hingegen fanden einen signifikanten Anstieg von NTpro-BNP bei Rüden nach der Kastration. Ebenso kontrovers wird die Korrelation mit der Herzfrequenz (OYAMA et al., 2008a; SHIPLEY et al., 2008; TARNOW et al., 2009), dem Gewicht (OYAMA et al., 2008a; FOX et al., 2009; TARNOW et al., 2009), dem Vertebral Heart Scale (VHS) (DROURR et al., 2008; FINE et al., 2008; OYAMA et al., 2008a; FOX et al., 2009) und den unterschiedlichen

Konzentrationen von NTpro-BNP in Serum und Plasma (BOSWOOD et al., 2008; KELLIHAN et al., 2009) diskutiert. OYAMA und Mitarbeiter (2008) fanden keine Korrelation mit der Konzentration von Natrium und Kalium im Serum, allerdings einen signifikanten Unterschied zwischen reinrassigen und Mischlingshunden. NTpro-BNP korrelierte signifikant mit der Höhe des Blutdrucks und mit NTpro-ANP (LALOR et al., 2009); es wurde keine Korrelation mit Thyroxin gefunden (FOX et al., 2009). Auch bezüglich der Korrelation mit verschiedenen echokardiographischen Parametern liegen die Autoren im Dissens: LA/Ao korrelierte in fünf Studien signifikant mit NTpro-BNP (CONNOLLY et al., 2008a; DROURR et al., 2008; OYAMA et al., 2008a; CHETBOUL et al., 2009; TARNOW et al., 2009), in drei Studien bestand kein Zusammenhang, wobei sich eine davon nur auf die im M-Mode gemessenen Werte bezieht (DROURR et al., 2008; FINE et al., 2008; CHETBOUL et al., 2009). Die FS und Regurgitationsfraktion waren positiv mit NTpro-BNP korreliert (CHETBOUL et al., 2009), ebenso die Jetgröße der Mitralregurgitation (TARNOW et al., 2009). Keine Korrelation bestand mit der Größe des linken Atriums, IVSd, LVPWd, der relativen Wanddicke (RWT), LVEDP und E/A (HORI et al., 2008a; FOX et al., 2009), EDD/BSA, ESD/BSA (DROURR et al., 2008), EDD/Ao, ESD/Ao (OYAMA et al., 2008a) und mit EDV/BSA (CHETBOUL et al., 2009); EDD, ESD und E/E_a werden kontrovers diskutiert (CONNOLLY et al., 2008a; DROURR et al., 2008; FINE et al., 2008; FOX et al., 2009; TARNOW et al., 2009). Es bestand eine signifikante Korrelation von NTpro-BNP mit der Schwere der Subaortenstenose (SAS) und der Blutflussgeschwindigkeit des linksventrikulären Ausflustrakts (LVOT) (FARACE et al., 2009b). NTpro-BNP korrelierte signifikant mit dem maximalen Druckgradienten bei Hunden mit Trikuspidalregurgitation (ATKINSON et al., 2009; FARACE et al., 2009a). Obwohl Hunde mit pulmonärer Hypertension (PH) statistisch signifikant höhere Werte aufwiesen als Hunde ohne PH ergaben sich keine Unterschiede bezüglich der Schwere der PH (FARACE et al., 2009a). ATKINSON und Mitarbeiter (2009) zeigten, dass die NTpro-BNP-Konzentration die initiale Verbesserung der PH unter Therapie mit Pimobendan innerhalb von 14 Tagen statistisch signifikant reflektiert, allerdings gab es keinen signifikanten Unterschied mehr nach 91 Tagen.

Hunde mit kardial bedingter Dyspnoe unterschieden sich in mehreren Studien signifikant von Hunden mit respiratorisch bedingter Dyspnoe (WESS et al., 2007;

FINE et al., 2008; OYAMA et al., 2008b). In einer Studie wichen die Ergebnisse von den anderen Untersuchungen zur gleichen Thematik ab: die Mittelwerte der Gruppen mit respiratorische Krankheiten, mit kardialen Erkrankungen und mit CHF lagen deutlich niedriger (BOSWOOD et al., 2008). Die Sensitivität zur Unterscheidung von kardial und respiratorisch bedingter Dyspnoe für die aus den Serumproben ermittelten NTpro-BNP Werte waren um 5 % niedriger als für Plasma-NTpro-BNP, wie in Tabelle 5 dargestellt (BOSWOOD et al., 2008).

Tabelle 5: Zusammenfassung der Cut-off Werte zur Unterscheidung von kardial und respiratorisch bedingter Dyspnoe beim Hund (WESS et al., 2007)¹, (OYAMA et al., 2008b)², (BOSWOOD et al., 2008)³, AUC = Area Under the Curve.

Differenzierung von Dyspnoe beim Hund	Cut-off pmol/ml	AUC	Sensitivität	Spezifität
¹ kardial vs. respiratorisch	520	-	94,7 %	96,2 %
² kardial vs. respiratorisch	1200	0,908	85,5 %	81,6 %
³ kardial vs. respiratorisch, Plasma	210	0,898	85 %	82,4 %
³ kardial vs. respiratorisch, Serum	210	0,888	80 %	82,4 %

NTpro-BNP war bei den Hunden mit asymptotischer MVD der ISACHC-Klassen Ia und Ib, die innerhalb 12 Monaten dekompenzierten, signifikant erhöht (773 pmol/l vs. 368 pmol/l); bei einem Cut-off von 466 pmol/l ergaben sich eine AUC von 0,81, Sensitivität 80 % und Spezifität 76 % zur Vorhersage der Morbidität innerhalb eines Jahres (CHETBOUL et al., 2009). Der Index NTpro-BNP/Kreatinin änderte nichts an den Signifikanzen. Bei Hunden aus Ia mit einer Regurgitationsfraktion (RF) \leq 30 % bestand kein Unterschied zur gesunden Gruppe, Hunde aus Ia mit RF $>$ 30 % dagegen hatten signifikant höhere Werte als die gesunden Hunde und diejenigen aus Ia mit RF \leq 30 % (CHETBOUL et al., 2009). Bei CKCS mit präklinischer MR und CKCS mit CHF konnte die NTpro-BNP-Konzentration bei Wiederholungsuntersuchungen die Progression des Regurgitationsvolumens vorhersagen (TARNOW et al., 2009).

Bei Hunde mit MVD, eingeteilt nach ISACHC-Klassen Ib, II, IIIa und IIIb wurden eine positive Korrelation von NTpro-BNP mit der Schwere des

Herzversagens sowie signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden (CHETBOUL et al., 2009; PIANTEDOSI et al., 2009). Hunde mit Klasse II dekompensierter Herzerkrankung hatten zudem signifikant höhere NTpro-BNP-Werte als Hunde mit Klasse II kompensierter Herzerkrankung (OYAMA et al., 2008a).

Die NTpro-BNP-Konzentrationen von Hunden mit MVD und mit DCM unterschieden sich signifikant von der gesunden Kontrollgruppe; zur Unterscheidung von Hunden mit CHF (ISACHC II oder III) und Hunden mit kardialer Erkrankung ohne CHF bestand allerdings ein Graubereich zwischen 820 – 1725 pmol/l, in dem die Hunde keiner Gruppe zugeordnet werden konnten (OYAMA et al., 2008a). Hunde mit einem erhöhten Vertebral Heart Scale (VHS) von $\geq 11,5$ konnten von denen mit physiologischem VHS unterschieden werden (OYAMA et al., 2008a).

Bei Hunden mit CHF aufgrund von MVD sind Anstieg und Abfall der NTpro-BNP-Konzentration signifikant mit dem klinischen Score und dem Auftreten von Lungenödem korreliert (ACHEN et al., 2009). Daher postulieren ACHEN und Mitarbeiter (2009), dass Serienmessungen von NTpro-BNP und Veränderungen der NTpro-BNP-Konzentration das Management von CHF aufgrund von MVD unterstützen und erleichtern könnten. In einer weiteren Studie korrelierte NTpro-BNP nicht nur mit der Schwere der MVD, sondern erreichte als einzige Variable statistische Signifikanz bezüglich der kardial bedingten Mortalität (SERRES et al., 2009). In Kombination mit dem klinischen Status konnte NTpro-BNP zur Vorhersage des kardial bedingten Outcome herangezogen werden (SERRES et al., 2009)

NTpro-BNP fiel nach Mitralklappenplastik bei Hunden, gemessen ein und drei Monate post OP, signifikant ab (3846 vs. 2415 vs. 1202 pmol/ml) und eignet sich somit als Indikator zur Beurteilung des kardialen Volumens (YAMAMOTO et al., 2008). In einer Studie mit experimentell induzierter Subaortenstenose (SAS) und einem dadurch bedingten Anstieg des linksventrikulären Drucks um im Mittel 50 mmHg waren die Serum NTpro-BNP Spiegel drei und auch sechs Monate post OP signifikant erhöht und korrelierten im Gegensatz zu ANP gut mit den linksventrikulären echokardiographischen Parametern (HORI et al., 2008a). Hunde mit moderater (Mean 1011 pmol/l) und schwerer (Mean 2529 pmol/l) SAS konnten von gesunden (Mean 361 pmol/l) und denjenigen mit milder SAS (Mean 344 pmol/l) differenziert werden (FARACE et al., 2009b). Auch bei anderen

kongenitalen Herzerkrankungen (PDA, PS, ASD) waren die NTpro-BNP-Spiegel signifikant erhöht (SAUNDERS et al., 2009).

Bei Hunden mit Vorhofflimmern konnte keine signifikante Erhöhung der NTpro-BNP-Konzentration festgestellt werden; es zeigte sich jedoch ein Trend zu höheren Konzentrationen bei Hunden mit Vorhofflimmern verglichen mit herzkranken Hunden im Sinusrhythmus sowie von Hunden mit DCM und Vorhofflimmern verglichen mit denjenigen mit MVD und Vorhofflimmern (SHIPLEY et al., 2008).

MORRIS und Mitarbeiter (2009) evaluierten NTpro-BNP beim Dobermann und untersuchten insgesamt 100 Hunde, 33 im okkulten Stadium und 67 gesunde Hunde. Die mittleren NTpro-BNP-Konzentrationen betragen 552 pmol/l bzw. 220 pmol/l und unterschieden sich signifikant voneinander (MORRIS et al., 2009). Für den kombinierten diagnostischen Gebrauch von abnormalem Holter oder einer NTpro-BNP-Konzentration von > 478 pmol/l wurde eine Sensitivität und Spezifität von 86,4 % und 96,8 % und eine Genauigkeit von 93 % zur Identifizierung von okkulter DCM beim Dobermann postuliert (MORRIS et al., 2009). In Tabelle 6 sind die Cut-off Werte beim Hund zusammengefasst.

Tabelle 6: Zusammenfassung der diagnostisch relevanten Cut-off Werte beim Hund. ¹(SAUNDERS et al., 2009), ²(OYAMA et al., 2008a), ³(FARACE et al., 2009b), ⁴(CHETBOUL et al., 2009), ⁵(TARNOW et al., 2009), ⁶(MORRIS et al., 2009), SAS = Subaortenstenose.

	AUC	Sensitivität	Spezifität
Kardial erkrankt ² NTpro-BNP > 445 pmol/l	0,92	83,2 %	90,0 %
Schwere Mitralklappenendokardiose ⁴ NTpro-BNP > 466 pmol/l → ⁵ NTpro-BNP > 299 pmol/l →	0,81 0,92	80 % 100 %	76 % 43 %
Kongestives Herzversagen ² NTpro-BNP > 1725 pmol/l UND ² NTpro-BNP < 820 pmol/l	0,83	88,2 %	76,7 %

Vertebral Heart Scale $\geq 11,5$ ² NTpro-BNP > 680 pmol/l	0,81	92,7 %	67,0 %
Okkulte DCM beim Dobermann ⁶ NTpro-BNP > 194 pmol/l → ⁶ NTpro-BNP > 315 pmol/l → ⁶ NTpro-BNP > 478 pmol/l →	0,823	90,9 % 78,8 % 57,6 %	40,3 % 76,1 % 91,4 %
Abnormales Echo beim Dobermann ⁶ NTpro-BNP > 478 pmol/l →	0,953	88,2 %	91,4 %
Kongenitale Erkrankungen ¹ NTpro-BNP > 354 pmol/l → ¹ NTpro-BNP > 826 pmol/l →	0,779	89,7 % 66,7 %	66,7% 100 %
Moderate + schwere SAS vs. gesund + milde SAS ³ NTpro-BNP > 713 pmol/l	0,86	NPV = 96 %	

RAFFAN und Mitarbeiter (2009) untersuchten Hunde mit Azotämie und verglichen sie mit gesunden, kardial erkrankten und Hunden mit CHF. Die NTpro-BNP-Konzentrationen der azotämischen Tiere waren mit einem Mittelwert von 929 pmol/l höher als in der gesunden Gruppe (Mean 118 pmol/l) und der Gruppe mit kardial erkrankten Hunden (Mean 556 pmol/l). Die Hunde im kongestiven Herzversagen wiesen eine mittlere NTpro-BNP Konzentration von 3144 pmol/l auf. Die Anwendung dreier empfohlener Cut-off-Werte, zum einen dem vom Hersteller des in dieser Studie verwendeten Tests von 300 pmol/l, zum anderen denen von OYAMA und Mitarbeitern (2008) (445 pmol/l zur Identifizierung von Herzerkrankungen und 1725 pmol/l zur Identifizierung von Herzversagen) führten zu einer Missklassifikation der azotämischen Hunde als kardial erkrankt. Die Autoren empfehlen daher, bei klinischer Anwendung der NTpro-BNP-Messung den renalen Status zu bestimmen. Für den Fall einer

vorliegenden Azotämie oder fehlender Nierenwerte sollte der Cut-off zur Diagnose einer kardialen Erkrankung erhöht werden.

Katzen mit kardial bedingter Dyspnoe wiesen in mehreren Studien signifikant höhere NTpro-BNP-Konzentrationen auf als Katzen mit respiratorisch bedingter Dyspnoe und die gesunden Kontrollgruppen (CONNOLLY et al., 2008b, 2009; WESS et al., 2008; FOX et al., 2009). In Tabelle 7 sind die Cut-off-Werte zur Differenzierung von Dyspnoe bei der Katze zusammengefasst.

Tabelle 7: Darstellung der Cut-off Werte zur Unterscheidung von Dyspnoe bei der Katze. ¹(WESS et al., 2007), ²(FOX et al., 2009), ³(CONNOLLY et al., 2009). * unter Ausschluss der Tiere mit linksventrikulärer Hypertrophie.

NTpro-BNP	AUC	Sensitivität	Spezifität
¹ > 277 pmol/l	-	95,0 %	87,8 %
² > 265 pmol/l	0,944	90,2 %	87,9 %
^{2*} > 207 pmol/l	0,977	93,1 %	93,6 %
³ > 220 pmol/l	0,96	93,9 %	87,8 %

NTpro-BNP wurde bezüglich seiner Eignung zur Frühdiagnose von feliner Kardiomyopathie in verschiedenen Studien evaluiert (CONNOLLY et al., 2008a; FOX et al., 2008; HSU et al., 2009; WESS et al., 2009a). Die NTpro-BNP-Konzentrationen waren in allen HCM Gruppen (symptomatisch wie asymptomatisch erkrankt) signifikant höher als in den gesunden Kontrollgruppen (CONNOLLY et al., 2008a; FOX et al., 2008; WESS et al., 2009a); in einer anderen Studie zeigten gesund, fraglich und moderate HCM allerdings keine statistisch signifikante Differenz (HSU et al., 2009). Kardial erkrankte Katzen im CHF wiesen signifikant höhere NTpro-BNP-Spiegel auf als Katzen mit Herzerkrankungen ohne CHF (CONNOLLY et al., 2008a). Zwischen der milden und der moderaten HCM-Gruppe bestand in einer Studie kein statistisch signifikanter Unterschied (WESS et al., 2009a).

Diejenigen Katzen aus der gesamten Population einer Studie, die eine Mutation des A31P MYBPC Gens aufwiesen, hatten signifikant höhere NTpro-BNP-Spiegel als Katzen ohne Mutation (Median 33 pmol/l vs. 12 pmol/l); dabei waren nicht alle betroffenen Katzen bereits klinisch auffällig: fünf Katzen waren zuvor

als herzgesund eingestuft worden, vier zeigten einen fraglichem Befund und fünf Katzen hatten entweder eine moderate oder schwerer HCM (HSU et al., 2009). Innerhalb der Gruppe mit schwerer HCM hatten Katzen mit Mutation signifikant höhere NTpro-BNP-Werte als diejenigen ohne Mutation (Median 220 pmol/l vs. 63 pmol/l) (HSU et al., 2009). Die Autoren vermuten, dass das Vorhandensein einer Mutation des A31P MYBPC Gens direkt einen Effekt auf die BNP-Synthese und -Sekretion hat und postulieren, dass die Bestimmung von NTpro-BNP als Screening Test für feline HCM ungeeignet ist (HSU et al., 2009). In Tabelle 8 sind die Cut-off Werte zur Diagnose von feliner Kardiomyopathie zusammengefasst.

Tabelle 8: Darstellung der Cut-off Werte zur Diagnose von feliner Kardiomyopathie. ¹(FOX et al., 2008), ²(CONNOLLY et al., 2008a), ³(HSU et al., 2009), ⁴(WESS et al., 2009a). HCM = Hypertrophe Kardiomyopathie, KM = Kardiomyopathie, CHF = kongestives Herzversagen. * nur schwere HCM diagnostizierbar, nicht aber milde oder moderate HCM.

Diagnose	NTpro-BNP	Sensitivität	Spezifität
Okkulte Kardiomyopathie	¹ > 70 pmol/l	87,5 %	100 %
	² > 49 pmol/l	100 %	89,3 %
	⁴ > 50 pmol/l	97,1 %	56,0 %
	⁴ > 100 pmol/l	94,2 %	81,3 %
	⁴ > 200 pmol/l	87,0 %	96,7 %
Schwere HCM	^{3*} > 44 pmol/l	90,0 %	83,0 %
Moderate HCM	³ > 44 pmol/l	20 %	86 %
Moderate und schwere HCM	³ > 44 pmol/l	58 %	86 %
Kardiomyopathie + CHF	² > 148 fmol/ml	97,0 %	96,7 %
Kardiomyopathie ± CHF	² > 49 fmol/ml	100 %	89,3 %
Kardiomyopathie – CHF	² > 49 fmol/ml	100 %	89,3 %
KM + CHF vs. KM – CHF	² > 220 fmol/ml	93,9 %	70,6 %

Eine Untersuchung von Katzen mit chronischer renaler Dysfunktion zeigte, dass NTpro-BNP bei hypertensiven Katzen signifikant höher war als bei gesunden normotensiven Tieren sowie bei normotensiven Katzen mit chronischer Niereninsuffizienz (Mittelwerte 311,0 pmol/l, 8,8 pmol/l und 54,3 pmol/l); die NTpro-BNP-Konzentrationen der normotensiven Katzen mit schwerer chronischer renaler Dysfunktion (Mittelwert 79,8 pmol/l) unterschieden sich signifikant von denen der gesunden Kontrollgruppe (LALOR et al., 2009). Ein Cut-off von 202,7 pmol/l erreichte eine Sensitivität und Spezifität von 80 % respektive 93 % zur Differenzierung von normotensiven Katzen und denjenigen mit Hypertonie, die AUC betrug 0,941 (LALOR et al., 2009). Nach Behandlung mit Amlodipine für 35 Tage und dadurch bedingter Senkung des Blutdrucks fielen die NTpro-BNP-Werte signifikant ab (LALOR et al., 2009). Die Autoren folgern, dass die Messung von NTpro-BNP als Diagnostikum für eine systemische Hypertension eingesetzt werden könnte, auch unter dem Aspekt, dass eine bestehende Azotämie keinen signifikanten Einfluss hatte (LALOR et al., 2009).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Patienten

Ausgewertet wurden die Daten von 358 Hunden, die im Rahmen einer Langzeitstudie zur dilatativen Kardiomyopathie beim Dobermann in der Abteilung für Tierkardiologie der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München zwischen August 2004 und April 2008 vorgestellt wurden.

Die Hunde wurden im Rahmen von Folgeuntersuchungen mehrfach vorgestellt. Alle Untersuchungen der erkrankten Patienten in den verschiedenen Krankheitsstadien gingen in die Auswertungen ein. Dadurch ergaben sich insgesamt 480 Untersuchungen. Die Studienpopulation setzte sich aus 250 herzgesunden und 108 an Kardiomyopathie erkrankten Tieren zusammen. 158 der untersuchten Hunde waren männlich und 200 weiblich. Ihr Gewicht lag zwischen 22,5 und 53,0 kg (Mittelwert 35,39 kg; Median 35,0 kg). Die Patienten waren zwischen einem und 13 Jahren alt (Mittelwert 4,81 Jahre; Median 4,2 Jahre).

1.1. Einschlusskriterien

Um in die vorliegende Studie aufgenommen zu werden, mussten die Hunde dem phänotypischen Bild eines reinrassigen Dobermanns entsprechen und älter als zwölf Monate sein. Es wurden nur gesunde Hunde sowie Hunde mit kardialen Befunden im Sinne einer Dobermannkardiomyopathie oder dilatativen Kardiomyopathie aufgenommen. Eine Kardiomyopathie wurde diagnostiziert, wenn mehr als 100 ventrikuläre Extrasystolen (VES) in 24 Stunden vorlagen und/oder mindestens ein echokardiographischer Parameter, wie unter 1.3.2. bis 1.3.6. (S. 54 – 56) beschrieben, verändert war. Andere kardiale sowie systemische Krankheiten galten als Ausschlusskriterium. Ein Langzeit-EKG-Befund von 50 – 100 VES in 24 Stunden wurde als Graubereich definiert und führte ebenfalls zum Ausschluss aus der Studie, da keine eindeutige Zuordnung zu einer Gruppe gemäß der Einteilungskriterien möglich war.

1.2. Untersuchungen

Bei jedem Patienten wurde zur Beurteilung der Symptomatik und zum Ausschluss anderer Erkrankungen eine ausführliche Anamnese erhoben sowie eine klinisch-kardiovaskuläre Untersuchung durchgeführt. Zusätzlich wurden die Hunde mittels Kurzzeit- und Langzeit-EKG sowie echokardiographischen Methoden untersucht.

1.2.1. Signalement und Anamnese

Um Hybriden von der Studienpopulation auszuschließen wurde zuerst eine phänotypische Beurteilung des äußeren Erscheinungsbildes nach dem Standard des Dobermannvereins durchgeführt. Neben der Erhebung allgemeiner anamnestischer Daten wie Alter, Geschlecht und Gewicht wurde insbesondere auf bisherigen Erkrankungen, Symptome wie Leistungsschwäche, Synkopen, Husten, Dyspnoe, Zyanose sowie eventueller aktueller Pharmakotherapie fokussiert.

1.2.2. Klinische und kardiovaskuläre Untersuchung

Alle Hunde wurden einer vollständigen klinischen sowie eingehenden kardiovaskulären Untersuchung unterzogen. Neben der Bestimmung allgemeiner klinischer Parameter waren besonders Herzauskultation, Pulspalpation, Beurteilung der Schleimhäute und des Jugularvenenpulses sowie die kapilläre Füllungszeit von Bedeutung.

1.2.3. Blutdruckmessung

Die Blutdruckmessung erfolgte nicht-invasiv mittels Dopplermethode. Zur Anwendung kam das Gerät Ultrasonic Doppler Flow Detector[®] der Firma Parks Medical Electronics, Oregon, USA. Eine dem individuellen Beinumfang entsprechende Manschette wurde bei den in Seitenlage gelagerten Patienten an einer der kranialen Gliedmaßen oberhalb des Karpalgelenks angelegt. Aus drei aufeinanderfolgenden Messungen wurde der Mittelwert bestimmt.

1.2.4. Elektrokardiographie

Zur Evaluation von Arrhythmien wurden jeweils sowohl ein Kurzzeit- als auch ein Langzeit-EKG angefertigt.

1.2.4.1. Kurzzeit-Elektrokardiographie

Die elektrokardiographische Untersuchung erfolgte in rechter Seitenlage mit dem Gerät Cardiovit[®] der Firma Schiller, Ottobrunn, Deutschland. Aufgezeichnet wurden jeweils die drei Standardableitungen nach Einthoven und Goldberger sowie eine Brustwandableitung über einen Zeitraum von 10 Sekunden. Zusätzlich wurde ein Ausdruck der Ableitung II nach Einthoven über sechs Minuten angefertigt.

1.2.4.2. Langzeit-Elektrokardiographie

Zur Aufzeichnung des EKGs über einen Zeitraum von 24 Stunden wurden die Geräte Custo Flash[®] 200 und 220 der Firma Arcon Systems, Starnberg, Deutschland verwendet. Die Offline-Analyse der digital gespeicherten Daten erfolgte mit dem Softwareprogramm Custo Tera[®] desselben Herstellers. Selbstklebenden Elektroden wurden jeweils rechts und links des Thorax vertikal untereinander direkt auf die Haut aufgebracht und zusätzlich mit Verbandsmaterial fixiert, ebenso wie das am Rücken befindliche Aufzeichnungsgerät. Die Hunde verbrachten den Untersuchungszeitraum bei ihren Besitzern mit der für sie üblichen körperlichen Belastung. Um softwarebedingte Fehler bei der Analyse auszuschließen, wurden die vom Programm gelieferten Ergebnisse der Untersuchung manuell kontrolliert.

1.2.5. Echokardiographie

Die echokardiographischen Untersuchungen wurde mit dem Gerät Vivid[®] 7 der Firma General Electric Medical Systems, Horten, Norwegen durchgeführt. Die Hunde wurden unседiert jeweils in rechter und linker Seitenlage auf einem speziellen Untersuchungstisch gelagert. Die zu untersuchenden Stellen wurde großzügig mit 70-prozentigem Alkohol und Kontaktgel vorbereitet, jedoch nicht ausrasiert. Ein einkanaliges EKG wurde zeitgleich zur Untersuchung abgeleitet. Für die Aufnahmen wurde ein 2,0/3,5 MHz-Schallkopf verwendet. Als Harmonic Einstellungen wurden 2,0/4,3 MHz gewählt.

Es wurden bei allen Patienten zweidimensionale Standard- und M-Mode-aufnahmen, Blutflussprofile sowie weitere, für vorliegende Studie irrelevante Aufzeichnungen gespeichert. Die dabei verwendete Terminologie und

Orientierung entsprach den Standards des Komitees für Echokardiographie des American Colleges of Veterinary Internal Medicine (THOMAS et al., 1993).

1.2.5.1. Zweidimensionale Echokardiographie

In der rechtsparasternalen Längsachse sowie von linksapikal im Vier- und Fünfkammerblick wurden Ventrikel und Atrien, die myokardiale Kontraktilität, der linksventrikuläre Ausflusstrakt sowie die Morphologie und Motilität der Atrioventrikularklappen subjektiv beurteilt. Die rechtsparasternale Kurzachse wurde auf Höhe der Chordae tendineae, der Papillarmuskeln, der Mitralklappe sowie der Herzbasis aufgezeichnet. Der rechtsventrikuläre Ausflusstrakt wurde in der rechtsparasternalen Kurzachse sowie von links auf Höhe der Herzbasis untersucht.

1.2.5.1.1. Messung der Durchmesser von linkem Atrium und Aorta

Basal in der rechtsparasternalen Kurzachse wurden die Durchmesser des linken Atriums und der Aorta gemessen (HANSSON et al., 2002). Neben den absoluten Werten wurden zudem deren Verhältnis (LA/Ao) errechnet.

1.2.5.1.2. Linksventrikuläre Volumina und Ejektionsfraktion

Mit Hilfe des Softwareprogramms EchoPac[®] der Firma General Electric Medical Systems, Horten, Norwegen erfolgte die Messung der linksventrikulären Volumina und Ejektionsfraktion offline, d.h. nach der direkten Untersuchung anhand der gespeicherten Aufnahmen. Die monoplanen Volumenmessungen erfolgten anhand der Aufnahmen in der rechtsparasternalen sowie linksapikalen Längsachse.

In der rechtsparasternalen Längsachse wurde auf eine senkrecht zum Schallstrahl stehende Längsachse geachtet. Von der Auswertung ausgeschlossen wurden Aufnahmen, bei denen der linke Ventrikel subjektiv als fälschlicherweise zu klein erschien, d.h. nicht exakt senkrecht angeschallt wurde. Die Messung wurde sowohl endsystolisch als auch enddiastolisch durchgeführt.

An der Ansatzstelle des septalen Segels der Mitralklappe am Übergang vom Endokard zum Ventrikellumen wurde mit der Markierung der gesamten in dieser Ebene sichtbare Endokardgrenze der linken Kammer bis hin zur Ansatzstelle des

parietalen Mitralklappensegel begonnen. Die Auswertungssoftware des Programms EchoPac® legt dabei eine Verbindungslinie zwischen die beiden Insertionsstellen der Mitralklappensegel. Senkrecht zu dieser stehend wurde eine Linie von der Mitte dieser Geraden zum Endokard an der Herzspitze halbautomatisch eingefügt. Die Auswertungssoftware teilte das markierte Ventrikellumen in senkrecht zur Längsachse stehende Scheibchen. Anhand der Scheibchensummationsmethode, berechnet nach der modifizierten Simpsonregel (KURODA et al., 1994; LANG et al., 2005, 2006), wurden aus dieser monoplanen Messung die endsystolischen und enddiastolischen Volumina des linken Ventrikels sowie konsekutiv die Ejektionsfraktion berechnet. Die Werte wurden ins Verhältnis zur Körperoberfläche (BSA = body surface area) gesetzt.

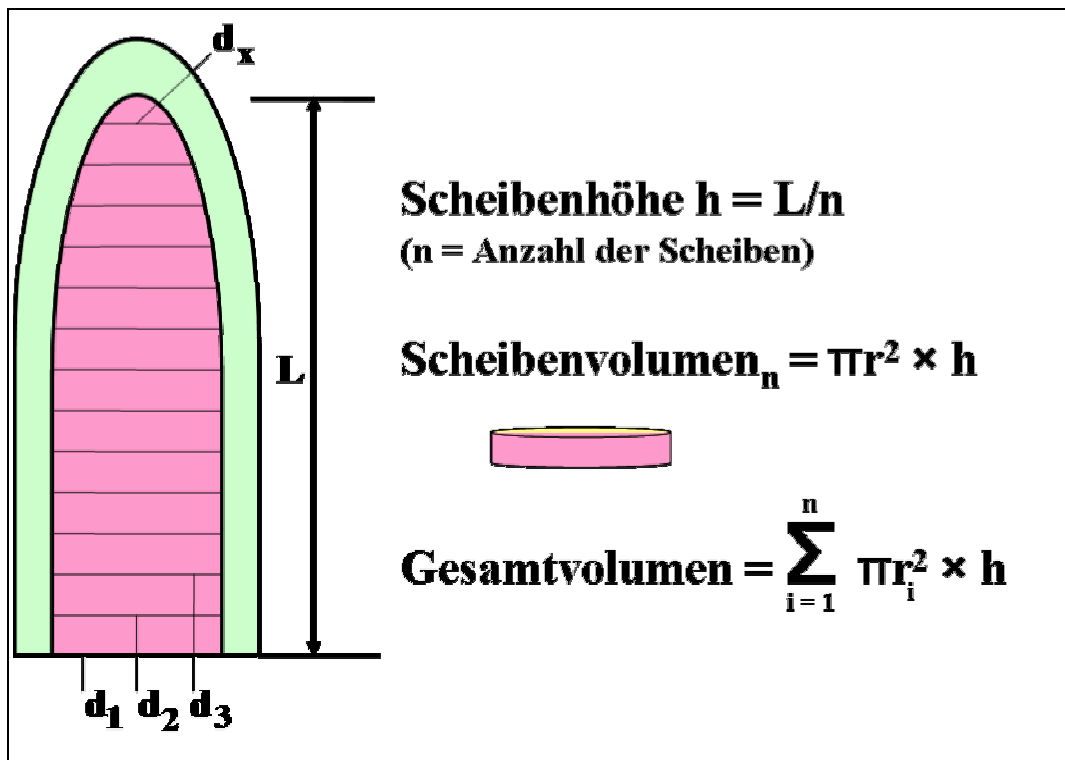


Abbildung 2: Berechnung des linksventrikulären Volumens mit der Scheibchensummationsmethode nach Simpson; die linksventrikuläre Kavität wurde in gleich hohe Scheiben unterteilt, deren Volumen nach oben stehender Formel berechnet wurde; aus der Addition der Volumina aller Scheiben ergibt sich das Gesamtvolumen ($d = \text{Disc (Scheibe)}$, $L = \text{linksventrikuläre innere Länge}$, $r = \text{Radius}$) (FEIGENBAUM, 2005).

Formel 1: Berechnung der Ejektionsfraktion (EF) (EDV = linksventrikuläres enddiastolisches Volumen, ESV = linksventrikuläres endsystolisches Volumen).

$$EF = \frac{EDV - ESV}{EDV} \times 100$$

Die endsystolische Messung wurde unmittelbar vor Öffnung der Mitralklappe durchgeführt. Die Enddiastole ist als das Bild vor oder direkt am initialen Mitralklappenschluss oder als erstes Bild im QRS-Komplex definiert (KITTLESON & KIENLE, 1998).

Im linksapikalen Vierkammerblick wurde ebenfalls auf eine optimale Aufnahmetechnik geachtet. Die Längsachse des Herzens, orientiert am interventrikulären Septum, musste parallel zum Ultraschallstrahl ausgerichtet sein. Hierbei wurde auf eine möglichst weit sternale Position des Ultraschallkopfes geachtet, um die Länge des linken Ventrikels nicht zu unterschätzen. Die Markierung der Endokardgrenzen und der Herzspitze sowie die Berechnung der linksventrikulären Volumina und der entsprechenden Ejektionsfraktion erfolgten wie in der rechtsparasternalen Längsachse. Anschließend wurden aus den jeweiligen entsprechenden Volumina und Ejektionsfraktionen eines Patienten von rechts und links die biplanen Mittelwerte gebildet.

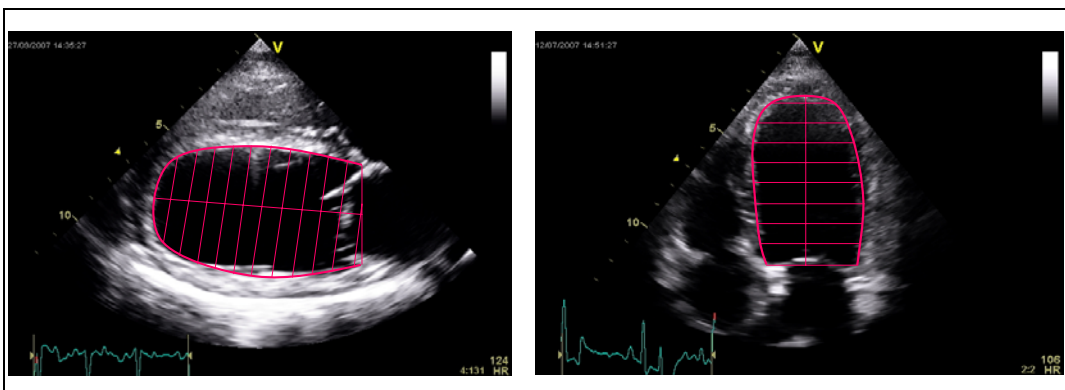


Abbildung 3: Sonographische Darstellung des linken Ventrikels am Ende der Diastole und Messung des enddiastolischen Volumens mit der Scheibchensummmationsmethode nach Simpson; das linke Bild zeigt die Messung in der rechten parasternalen Längsachse, im rechten Bild die Messung im linksapikalen Vierkammerblick.

1.2.5.2. M-Mode-Echokardiographie

Zur objektiven Beurteilung der linksventrikulären Dimensionen wurden M-Mode-Aufnahmen angefertigt. In der rechten parasternalen Längsachse wurden die Durchmesser des interventrikulären Septums, des linken Ventrikellumens und der linken Hinterwand sowohl am Ende der Systole als auch der Diastole bestimmt. Aus dem enddiastolischen und endsystolischen Durchmesser des Ventrikellumens wurde die Verkürzungsfraction (FS) errechnet, die ein Maß für die Kontraktilität darstellt (BOON, 1998; MOISE & FOX, 1999). Von einer Stadieneinteilung

anhand der Verkürzungsfraction, die zur Beurteilung der dilatativen Kardiomyopathie beim Dobermann kontrovers diskutiert wird, wurde allerdings abgesehen, da die FS beim Dobermann eine große Variabilität aufweist (CALVERT et al., 1997a).

Aufgrund des schmalen und tiefen Brustkorbs beim Dobermann kommt es häufig vor, dass die rechte parasternale Kurzachse schräg, also nicht direkt senkrecht, angeschallt wird. Daher sind die Werte der linksventrikulären Durchmesser in der rechten parasternalen Kurzachse signifikant größer als in der Längsachse (SIMAK, 2008), dies war auch in einer Studie mit einer bezüglich der Hunderassen gemischten Population der Fall (SCHOBER & BAADE, 2000). Die Kurz- und Längsachsenmessungen korrelieren beim Dobermann gut miteinander (SIMAK, 2008). In vorliegender Studie wurden deshalb die linksventrikulären Durchmesser ausschließlich in der Längsachse bestimmt.

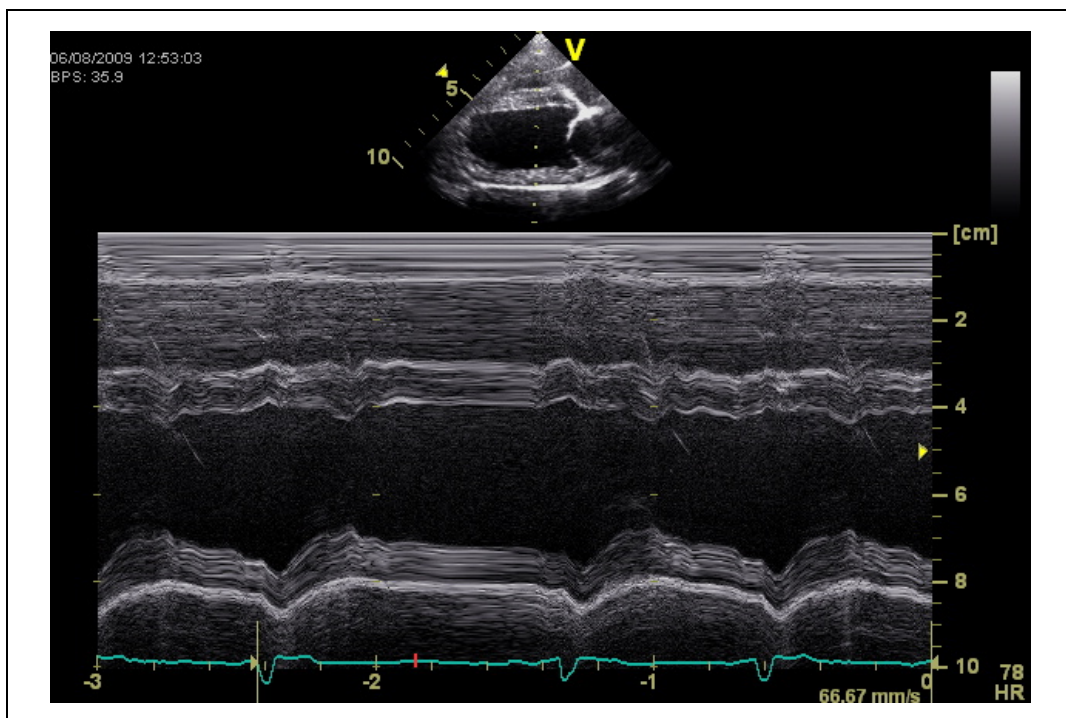


Abbildung 4: M-Mode-Aufnahmen des linken Ventrikels in der rechtsparasternalen Längsachse.

Formel 2: Berechnung der Verkürzungsfraction (FS) (LVDd = linksventrikulärer Durchmesser in der Diastole, LVDs = linksventrikulärer Durchmesser in der Systole).

$$FS = \frac{LVDd - LVDs}{LVDd} \times 100$$

Die Messungen wurden in der rechtsparasternalen Längsachse apikal der maximalen Mitralklappenöffnung senkrecht zur horizontalen Achse der linken Kammer durchgeführt. Dabei wurde im zweidimensionalen Bild eine Darstellung der linken Hinterwand ohne Papillarmuskel bevorzugt. Wenn dies nicht möglich war, wurde die linke Wand ohne Papillarmuskel gemessen. Konnte der M-Mode bei der Untersuchung nicht exakt senkrecht zur Längsachse aufgenommen werden, wurde bei der Offline-Analyse ein anatomischer M-Mode an der korrekten Position durch die zweidimensionale Aufnahme des linken Ventrikels gelegt. Damit wurden Messfehler durch Unter- oder Überschätzung des Ventrikellumens minimiert.

1.2.5.3. Doppler-Echokardiographie

Mit dem Farbdoppler wurden sowohl die Atrioventrikular- als auch die Semilunarklappen auf eventuelle Insuffizienzen oder Stenosen sowie das interatriale und interventrikuläre Septum auf mögliche angeborene Defekte hin untersucht. Ein persistierendes *Ductus arteriosus Botalli* wurde ausgeschlossen. Der kontinuierliche Spektraldoppler kam zum Einsatz, um die Blutflussgeschwindigkeiten im links- und rechtsventrikulären Ausflusstrakt zu messen. Mit dem gepulsten Spektraldoppler wurden Einflussprofile der Atrioventrikularklappen erstellt.

1.3. Einteilung in Krankheitsstadien

Die Einteilung in die entsprechenden Krankheitsstadien erfolgte anhand der Ergebnisse der Langzeit-EKG-Untersuchungen sowie den linksventrikulären Durchmesser und Volumina, die in den jeweiligen echokardiographischen Untersuchungen ermittelt wurden.

1.3.1. Herzgesund

Für die gesunde Gruppe galt: anamnestisch unauffällig, klinische Untersuchung ohne besonderen Befund, regelmäßiger Sinusrhythmus oder eine respiratorische Sinusarrhythmie mit physiologischer Komplexmorphologie und physiologischer Herzachse als EKG-Befund, maximal 50 ventrikuläre Extrasystolen (VES) bei ansonsten unauffälligem 24-Stunden-EKG, keine pathologischen Veränderungen

in der echokardiographischen Untersuchung, Farb- und Spektraldopplermessungen innerhalb des physiologischen Bereichs; enddiastolische Durchmesser des linken Ventrikels maximal 48 mm; endsystolischer Durchmesser maximal 38 mm; EDV maximal 100 ml pro m² Körperoberfläche, ESV maximal 55 ml pro m² Körperoberfläche; keine kardiovaskulär wirksame Pharmakotherapie. Die Einschlusskriterien sind in den Tabellen 9 und 10 zusammengefasst.

Tabelle 9: Darstellung der Beurteilung von elektrokardiographischen Veränderungen im Holter-EKG.

Unauffällig	< 50 VES in 24 Stunden
Graubereich	50 – 100 VES in 24 Stunden = Ausschlusskriterium
Pathologisch	> 100 VES in 24 Stunden

Tabelle 10: Darstellung der echokardiographischen Parameter als Voraussetzung zur Einteilung in die gesunde Kontrollgruppe. Die Beurteilung der enddiastolischen und endsystolischen Durchmesser erfolgte gewichtsabhängig, die der enddiastolischen und endsystolischen Volumina bezogen auf die Körperoberfläche (body surface area = BSA) anhand der Methode nach Simpson.

EDD	≤ 48 mm
ESD	≤ 38 mm
EDV	≤ 100 ml / m ² BSA
ESV	≤ 55 ml / m ² BSA

1.3.2. Noch Gesund

Für die „noch gesunde“ Gruppe galten die gleichen Kriterien wie für die herzgesunden Hunde. Hierbei handelte es sich um Patienten, bei denen im Rahmen einer Folgeuntersuchung pathologische kardiale Befunde im Sinne einer Kardiomyopathie diagnostiziert und aufgrund dessen nachträglich dieser Gruppe zugeordnet wurden.

1.3.3. Ausschließlich ventrikuläre Extrasystolen

Die Hunde in diesem okkulten Stadium waren anamnestisch unauffällig, d.h. sie präsentierten sich den Besitzern noch vollkommen gesund, wiesen im Langzeit-EKG aber mehr als 100 ventrikuläre Extrasystolen (VES) auf. Für die echokardiographischen Befunde galten die gleichen Kriterien wie für die gesunde Gruppe.

1.3.4. Ausschließlich echokardiographische Veränderungen

Auch die Hunde dieser okkulten Gruppe waren anamnestisch unauffällig. Aufgrund der weiter fortgeschrittenen Erkrankung durften im 24-Stunden-EKG anders als in der herzgesunden Gruppe maximal 100 VES auftreten. Die Patienten zeigten die mit einer kompensierten dilatativen Kardiomyopathie einhergehenden sonographischen Veränderungen wie schlechte myokardiale Kontraktilität, vergrößerte endsystolische und/oder enddiastolische linksventrikuläre Durchmesser und/oder Volumina. Dabei galten folgende Kriterien: enddiastolischer Durchmesser des linken Ventrikels > 48 mm; endsystolischer Durchmesser > 38 mm; EDV > 100 ml/m² BSA, ESV > 55 ml/m² BSA sowie konsekutive pathologische Erscheinungen. Andere Tachyarrhythmien, Veränderungen der Komplexmorphologie sowie die Gabe kardiovaskulär wirksamer Medikamente waren keine Ausschlusskriterien.

1.3.5. Echokardiographische Veränderungen und ventrikuläre Extrasystolen

In diese Gruppen wurde diejenigen Hunde aufgenommen, die sowohl mehr als 100 VES in 24 Stunden als auch die oben beschriebenen echokardiographischen Veränderungen aufwiesen.

1.3.6. Dekompensiertes Stadium

Diese Hunde mussten anamnestische oder bei Vorstellung klinische Anzeichen einer kardialen Dekompensation (Husten, Dyspnoe, Lungenödem, Thoraxerguss, Aszites) als Folge einer dilatativen Kardiomyopathie zeigen. Aufgründessen waren bei der echokardiographische Untersuchung die linksventrikulären Durchmesser und Volumina pathologisch verändert und das Verhältnis des linken

Atriums zur Aorta war größer 1,5. Die Patienten in diesem Stadium durften unterschiedliche pathologische elektrophysiologische Veränderungen zeigen.

Auch ein symptomfreier Zustand nach zuvor diagnostizierter Dekompensation unter bereits begonnener Therapie wurde akzeptiert. Antiarrhythmika, ACE-Inhibitoren, positiv inotrope Medikamente, Diuretika oder eine Kombination dieser Medikamente wurden je nach klinischer Indikation oder aufgrund einer Vorbehandlung durch den Haustierarzt gegeben.

2. Bestimmung von NTpro-BNP

Zur Anwendung kam der Test VC4010 VETSIGN™ Canine CardioSCREEN Nt-pro-BNP der Firma Guildhay Limited, England. Alle Proben wurden mit Tests aus demselben Herstellungslot VC4010-82 verarbeitet. Damit wiesen die Standards für alle Tests dieselben Konzentrationen auf.

2.1. Blutprobengewinnung und -konservierung

Die Blutprobengewinnung erfolgte bei allen Hunden aus einer der beiden Venae jugulares mit sterilen Einmalkanülen, Durchmesser 20 G (0,9 x 40 mm), in ein bei -20 °C gekühltes mit K-EDTA als Antikoagulant beschichtetes Röhrchen der Firma Sarstedt Aktiengesellschaft & Co, Nümbrecht. Direkt im Anschluss an die Entnahme wurden die Proben bei 4 °C mit 1600 x g 10 Minuten lang zentrifugiert. Für die Bestimmung von NTpro-BNP wurde je 1 ml Plasma in Polystyren-Röhrchen derselben Firma bis zur Durchführung des ELISA bei -70 °C aufbewahrt.

2.2. Beschreibung des Testverfahrens

Bei dem verwendeten Test handelt es sich um einen Enzyme Linked Immuno Sandwich Assay der Firma Guildhay Ltd., England, zur Messung von immunoreaktivem NTpro-BNP in kaninem Plasma oder Serum. Um eine hohe Spezifität zu erreichen enthält der Testkit zwei gereinigte, immunoaffine Antikörper, die aus Schafseren gewonnen wurden und welche spezifisch für kanines NTpro-BNP sind. Die Platte beinhaltet den Capture-Antikörper Anti-NTpro-BNP (25 – 41), der in jedem Well aufgetragen ist. Der Tracer besteht aus

dem mit Horseradish konjugierten Erkennungs-Antikörper Anti-NTpro-BNP (1 – 22). In der Inkubationsphase werden sowohl die Standards als auch die Proben und der konjugierte Erkennungs-Antikörper (Tracer) gleichzeitig in die Wells gegeben. Das vorhandene NTpro-BNP bindet an den im Well vorhandenen Capture-Antikörper und bildet einen Sandwich-Komplex mit dem Detektions-Antikörper. Nach dem Auswaschschritt, in dem jegliches nicht spezifisch gebundenes Material entfernt wird, wird das Substrat Tetramethylbenzidin (TMB) hinzugefügt. Das gebundene NTpro-BNP wird durch einen enzymkatalysierten Farbumschlag quantifiziert, der in jedem Standard Auslesegerät für Mikrotiter-Platten messbar ist. Dabei ist die Intensität der entwickelten Farbe direkt proportional zu der in der jeweiligen Probe vorhandenen Menge an NTpro-BNP-Immunoreaktivität. Aus den gemessenen Werten wird eine Standardkurve erstellt und die NTpro-BNP Konzentration der Proben anhand der für jede Platte individuellen Kurve errechnet. Laut Herstellerangaben wurde der Test wie folgt evaluiert: zur Unterscheidung von gesunden Hunden und Hunden mit respiratorisch bedingter Dyspnoe vs. Hunde mit kardialer Erkrankung oder mit CHF ergaben sich eine AUC von 95,2 und bei einem Cutoff von 210 pmol/l folgende Werte: Sensitivität 85 %, Spezifität 90 %, PPV 94 %, NPV 77 % und eine Genauigkeit von 87 %. Das Erkennungslimit lag bei 42 pmol/l, die Intra-Assay-Präzision ergab folgende Werte: für niedrige Konzentrationen 6,4 %, für mittlere Konzentrationen 8,4 % und für hohe Konzentrationen 7,1 %. Die Inter-Assay-Präzision lag für niedrige, mittlere und hohe Konzentrationen bei 7,1 %, 8,6 % und 8,2 %.

2.3. Testdurchführung

Die Testdurchführung erfolgte nach Herstellerangaben. Alle Proben und Reagenzien mussten bei Raumtemperatur (18 – 26°C) verarbeitet werden. Um eine gleichmäßige Erwärmung der bei -70 °C aufbewahrten Plasmaproben zu gewährleisten, wurden diese unter Temperaturkontrolle im Wasserbad bei 20 °C über 60 Minuten aufgetaut. Die Reagenzien des Testkits, die bei 4 °C aufbewahrt wurden, wurden ebenfalls im Wasserbad bei 20 °C über 30 Minuten auf die erforderliche Temperatur gebracht. Lediglich die ELISA-Platte wurde unmittelbar bis zu ihrem Gebrauch weiterhin bei 4 °C aufbewahrt.

Vorbereitend wurde die zum Auswaschen der Wells verwendete Pufferlösung hergestellt. Dazu wurden die im Testpaket enthaltenen 100 Milliliter Pufferkonzentrat auf 1000 Milliliter mit destilliertem Wasser verdünnt. Zur Auflösung der teilweise vorhandenen Kristalle und zur gleichmäßigen Durchmischung wurde ein Magnetrührgerät verwendet. Anschließend wurden die gefriergetrockneten Standards mit jeweils 300 μl destilliertem Wasser gelöst und 30 Minuten bei Raumtemperatur belassen. Bevor jeweils 20 μl der jeweiligen Standardlösung und Proben in die Wells pipettiert wurden, wurden sie mit dem Rüttelgerät REAX 2000 der Firma Heidolph, Deutschland, gut durchgemischt. Die Standards und der Nullwert, für den die gleiche Menge destilliertes Wasser verwendet wurde, wurden als Doppelansatz angelegt, die Proben als Dreifachansatz. Alle Wells wurden mit 200 μl Tracer aufgefüllt und die Platte zur Durchmischung der Reagenzien auf ein Rüttelgerät TPM 2 der Firma Sarstedt, Deutschland, für 5 Minuten verbracht. Danach wurden die Platten mit einer selbstklebenden Plastikfolie versiegelt, um Verdunstung zu vermeiden. Laut Herstellerangaben sollte die Inkubationszeit 16 – 24 Stunden betragen. Aus Gründen der Standardisierung wurden für diese Studie alle Platten gleichlang (20 Stunden) inkubiert. Die Inkubation erfolgte bei Raumtemperatur (16 – 24 °C) in einer absolut lichtundurchlässigen Vorrichtung. Gewaschen wurde mit Gerät PW 96 der Firma SLT LABINSTRUMENTS, Österreich, mit folgenden Einstellungen: in fünf Waschzyklen wurde jedes Well jeweils mit 375 μl Waschpufferlösung gespült, Einwirkzeit jeweils 22 Sekunden, Absaugzeit jeweils 7 Sekunden. Um sicherzustellen, dass jeglicher Flüssigkeitsrückstand entfernt wurde, wurde nach laborüblicher Methode jede Platte dreimal mit Schwung auf ein Einmaltuch geklopft. Danach wurde in alle Wells 200 μl Substrat pipettiert und die Platte zur Durchmischung auf das bereits vorher erwähnte Rüttelgerät verbracht. Damit wurde sichergestellt, dass genügend Substrat für die Reaktion mit den am Wellboden gebundenen Komplexen gelangen konnte. Jede Platte wurde wieder mit einer selbstklebenden Plastikfolie versehen und nochmals im Dunkeln für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Um die biochemischen Vorgänge zu beenden, wurde in jedes Well 50 μl Stopplösung pipettiert und erneut auf dem Rüttelgerät für fünf Minuten gemischt. Unmittelbar im Anschluss erfolgte die Messung der Absorptionsrate.

2.4. Messung der optischen Dichte

Die Messung der jeweiligen optischen Dichte erfolgte im ELISA-Reader Spectra Rainbow Thermo der Firma TECAN, Österreich, mit 450 nm. Verarbeitet und dargestellt wurden die Daten mittels des Softwareprogramms easyWIN kinetics Software Version 6.0a der Firma TECAN Deutschland GmbH. Dies erfolgte dreimal, um gerätebedingte Fehler auszuschließen. Nach Kontrolle der Ergebnisse auf eventuell signifikante Abweichungen der Auslesung einer Platte wurden die Daten der ersten Messung weiter verwendet.

2.5. Bestimmung der NTpro-BNP-Konzentrationen

Die NTpro-BNP-Konzentrationen wurden anhand der ermittelten optischen Dichten errechnet. Um verfahrensbedingte Messfehler zu minimieren, wurden pro Blutprobe drei Messungen durchgeführt und die Ergebnisse einem Ausreisserbereinigungsverfahren unterworfen.

2.5.1. Parameteranpassung

Die Umrechnung der optischen Dichten in die jeweiligen NTpro-BNP-Konzentrationen, angegeben in pmol/l, erfolgte anhand der vom Hersteller empfohlenen 4-Parameter-log Formel.

Formel 3: 4-Parameter-log Formel zur Berechnung der Ntpro-BNP Konzentrationen aus den optischen Dichten.

$$y = (a-d)/(1+(x/c)^b) + d$$

Die Variablen x und y bezeichnen hierbei die optische Dichte respektive die zugehörige NTpro-BNP Konzentration. Die Parameter a,b,c,d wurden für jede Platte anhand der gemessenen optischen Dichten der Standardkonzentrationen durch ein Parameterschätzverfahren nach dem Prinzip der kleinsten Fehlerquadrate berechnet (WOLBERG, 2005). Die Schätzung der optimalen Parameter erfolgte nach dem Verfahren von Levenberg und Marquardt in der Implementierung des Numerik-Softwarepakets SCILAB, Version 4.1.2 (www.scilab.org, 2008) (LEVENBERG, 1944; MARQUARDT, 1963).

2.5.2. Ausreißerbereinigung und Mittelung

Pro Hund standen drei gemessene optische Dichten zur Verfügung. Diese wurden zunächst einer Ausreißerbereinigung nach Chauvenet unterzogen, um zweifelhafte Messwerte auszuschließen (WOLBERG, 2005). Demnach werden Messwerte als Ausreißer markiert, wenn sie soweit vom mittleren Messwert entfernt liegen, dass sie unter der Annahme der Normalverteilung als zu unwahrscheinlich anzusehen sind. Pro Hund wurde auf diese Weise höchstens einer der Messwerte als Ausreißer markiert.

Anhand der verbleibenden zwei oder drei Messwerte eines Hundes ergaben sich gemäß der Formel 3 auf S. 60 die entsprechenden NTpro-BNP-Konzentrationen. Aus diesen wurde dann jeweils die mittlere NTpro-BNP-Konzentration errechnet.

2.6. Validierung der Platten

Die Güte der Messwerte der einzelnen ELISA-Platten wies teils erhebliche Unterschiede auf. Deutlich zu erkennen war dies anhand folgender Qualitätsparameter:

Monotonie: Die 4-Parameter-Log Formel wie auch die technische Anschauung lassen einen monotonen Zusammenhang zwischen den gemessenen optischen Dichten und den NTpro-BNP-Konzentrationen erwarten. Das bedeutet, dass höhere Konzentrationen auch höhere Messwerte für die optische Dichte ergeben sollten. Bei einigen ELISA-Platten war dies jedoch nicht der Fall. Die optischen Dichten für die erste und zweite Standardkonzentration (0 bzw. 140 pmol/l) waren jeweils höher als die der dritten (360 pmol/l), wodurch die 4-Parameter-Log-Kurve stark S-förmig verbogen wurde, und die Messwertgüte insgesamt zweifelhaft erscheint. Abbildung 5 zeigt die Messwerte und Standardkurve einer solchen Platte.

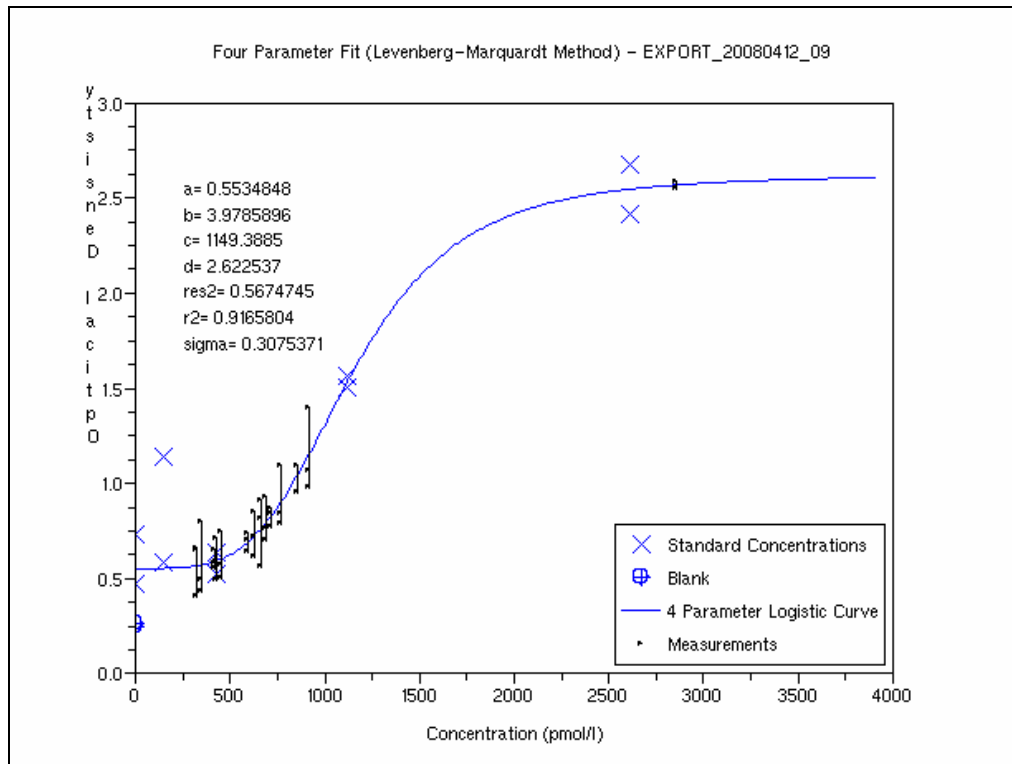


Abbildung 5: Darstellung einer Standardkurve und dazugehörigen Messwerten mit zweifelhafter Messwertgüte.

Residuum, definiert als die Summer der Quadrate der Abweichungen der Messwerte für die Standardkonzentrationen von der 4-Parameter-Log-Kurve. Das Residuum ist ein Maß für die Güte der Anpassung der logistischen Kurve an die Standard-Messwerte sowie für die Streuung der Standard-Messwerte. Die Residuen wichen zum Teil deutlich voneinander ab mit erheblichen Ausreißern nach oben, wie Abbildung 6 veranschaulicht.

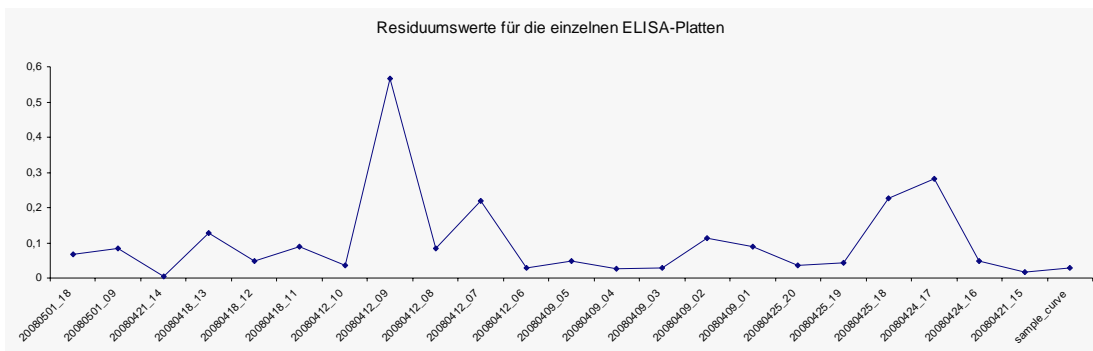


Abbildung 6: Darstellung der Residuumswerte aller verwendeten ELISA Platten.

Bei Platten, deren Messwerte die Monotonieannahme verletzen, ist notwendigerweise auch das Residuum groß, da die 4-Parameter-Log-Kurve erheblich von den optischen Dichten der Standards abweicht.

Streuung, definiert als die empirische Standardabweichung der Messwert-Tripel von ihrem jeweiligen Mittelwert. Im Gegensatz zum Residuum ging hier nicht nur die zufallsbedingte Streuung der Standardmesswerte ein, sondern die aller Messwerte der Platte. Abbildung 7 zeigt, dass die Streuung, ebenso wie das Residuum, deutliche Unterschiede aufwies. Es gibt jedoch keinen sichtbaren Zusammenhang zwischen beiden Qualitätsparametern.

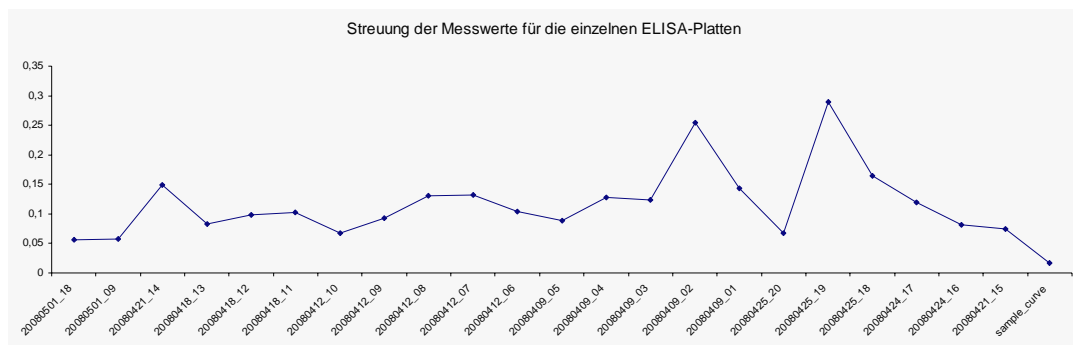


Abbildung 7: Darstellung der Streuung der Messwerte aller verwendeten ELISA Platten.

Die Platten mit Residuumswerten größer 0,2, bei denen gleichzeitig die Monotonieannahme verletzt war, wurden verworfen. In diesen Fällen wurde die Messung der gesamten Proben einer Platte wiederholt, um produktionsbedingte und verfahrenstechnische Einflüsse auf die Messwerte zu minimieren.

Abbildung 8 zeigt beispielhaft die Messwerte und Standardkurve einer Platte mit hoher Messwertqualität.

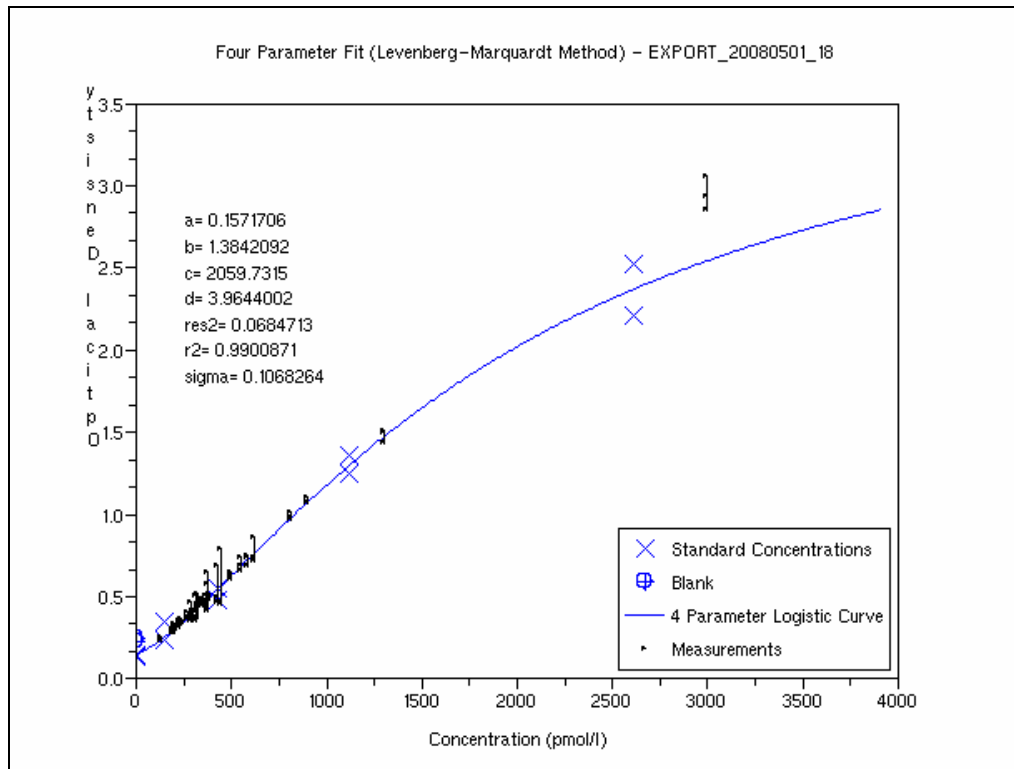


Abbildung 8: Darstellung der Standardkurve und Messwerte einer ELISA Platte mit hoher Messwertqualität.

3. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten wurde mit den Programmen SPSS[®] (Statistical Package for the Social Science) 13.0 für Windows und MedCalc[®] Statistical Software durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde 0,05 definiert. Die Normal- bzw. Gleichverteilung der Daten wurden anhand von Histogrammen, Q-Q-Plots sowie des Kolmogorov-Smirnov-Tests beurteilt. Mittels deskriptiver und explorativer Statistik wurden die allgemein üblichen Analysen durchgeführt.

3.1. Erstellung von Referenzwerten

Die Erstellung des Referenzwerts des in vorliegender Studie untersuchten kardialen Biomarkers aus den Daten der herzgesunden Hunde erfolgte mittels deskriptiver Statistik. Die Referenzwerte werden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben.

3.2. Untersuchung von Einflussfaktoren

Die Einflussfaktoren wurden innerhalb der herzgesunden Population überprüft. Eine eventuelle Abhängigkeit der NTpro-BNP Konzentration vom Geschlecht wurde aufgrund fehlender Gleichverteilung mittels Whitney-Mann-U und Kolmogorov-Smirnov-Test untersucht. Bei Alter und Gewicht wurde aufgrund fehlender Normalverteilung der Kruskal-Wallis-H Test angewendet. Dazu wurden die Hunde der gesunden Gruppe in fünf Gewichts- und Altersgruppen (Tabelle 11) eingeteilt.

3.3. Vergleich der Krankheitsstadien

Die einzelnen Gruppen wurden mittels dem ANOVA-Test und anschliessendem Mehrfachvergleich nach Bonferroni untersucht. So konnten statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen dargestellt werden.

3.4. Berechnung von Cut-offs

Mit Hilfe des statistischen Auswertungsprogramms MedCalc[®] wurden Receiver-Operator-Characteristic-(ROC)-Kurven zur Differenzierung der erkrankten Hunde sowie einzelner Stadien von der gesunden Kontrollgruppe erstellt und die Flächen unten den Kurven (area under the curve = AUC) zur besseren Beurteilung des Differenzierungspotentials von NTpro-BNP berechnet. Verschiedene Cut-off-Werte wurden bezüglich ihrer Sensitivität und Spezifität untersucht.

Tabelle 11: Gewichts- und Altersgruppen für die Gruppe der herzgesunden Hunde (n = 327 Proben von 250 Hunden).

Altersgruppe	Jahre	Anzahl	%
1	1 < 2	71	21,7
2	2 < 4	125	38,2
3	4 < 6	71	21,7
4	6 < 8	39	11,9
5	8 +	21	6,4
Gewichtsgruppe	kg	Anzahl	%
1	- 30	69	21,1
2	31 - 35	124	37,9
3	36 - 40	73	22,3
4	41 - 45	54	16,5
5	> 45	7	2,1

3.5. Prävalenz und Prädiktive Werte

Die Prävalenz der Kardiomyopathie innerhalb der Studienpopulation wurde mit dem Statistikprogramm MedCalc[®] als Verhältnis der erkrankten Hunde zur Gesamtanzahl der untersuchten Patienten berechnet. Die positiven und negativen prädiktiven Werte wurden als weitere Gütekriterien der diagnostischen Validität von NTpro-BNP berechnet.

3.6. Korrelation mit echokardiographischen Parametern

Folgende echokardiographische Parameter wurden bezüglich einer eventuellen Korrelation mit NTpro-BNP untersucht: Durchmesser des linken Atriums und der Aorta, LA/Ao, linksventrikulärer endsystolischer und enddiastolischer Durchmesser in der rechtsparasternalen Längsachse sowie die entsprechende Verkürzungsfraction; endsystolische und enddiastolische Volumina, zum einen in der rechtsparasternalen Längsachse und im linksapikalen Vierkammerblick gemessen, zum anderen durch biplane Berechnung ermittelt sowie die entsprechenden Ejektionsfraktionen.

IV. ERGEBNISSE

1. Charakterisierung der Patienten

1.1. Alters-, Geschlechts- und Gewichtsverteilung

Zur Beurteilung der Patientenpopulation wurden Alter, Geschlecht und Gewicht der Patienten in den verschiedenen Stadien der Erkrankung untersucht. In Tabelle 12 wird die Verteilung der physiologischen Parameter dargestellt.

Tabelle 12: Darstellung der Verteilung von Alter (in Jahren), Gewicht (in Kilogramm) und Geschlecht (Anzahl der Hunde) bezogen auf alle Untersuchungen in den einzelnen Stadien.

		gesund	noch normal	nur VES	nur Echo	VES + Echo	dekompensiert
Anzahl Untersuchungen		327	19	64	26	31	13
Alter	mean	3,9	6,0	6,4	6,3	7,9	7,8
	median	3,4	5,8	6,9	6,3	8,0	7,8
	min	1,0	1,4	1,0	2,3	2,5	3,6
	max	11,3	12,0	12,8	11,5	10,8	11,1
Gewicht	mean	35,1	37,3	35,6	36,4	36,8	35,1
	median	34,0	37,0	35,0	38,0	37,0	37,0
	min	22,5	32,0	25,0	25,0	26,0	24,5
	max	53,0	44,0	48,0	45,0	46,0	42,0
Geschlecht	weiblich	200	8	40	10	12	3
	männlich	127	11	24	16	19	10

Das Gewicht war sowohl in der Gesamtpopulation als auch in den einzelnen Gruppen normal verteilt. Es zeigte sich eine homogene Verteilung ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Auch beim Vergleich des Gewichts aller erkrankten Tiere mit der Kontrollgruppe ergaben sich keine Unterschiede.

Das Alter war außer in der gesunden Gruppe normal verteilt. Das mittlere Alter der an Kardiomyopathie erkrankten Gruppen war signifikant höher als in der herzgesunden Gruppe (Abb. 5). Zwischen den einzelnen Stadien der Kardiomyopathie bestanden keine statistisch signifikanten Altersunterschiede.

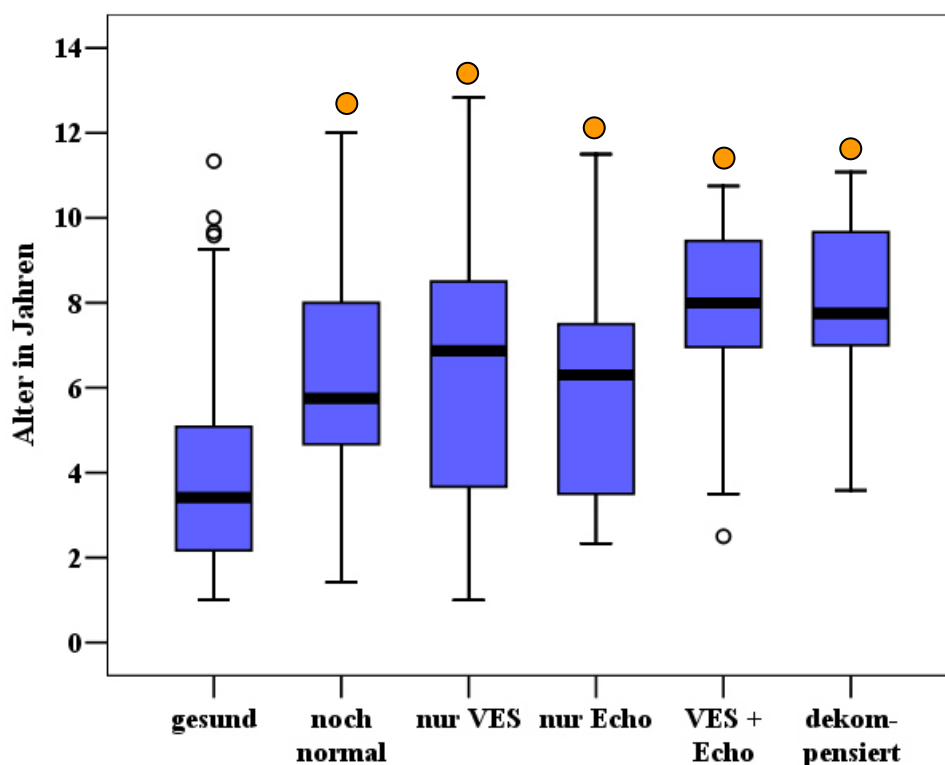


Abbildung 5: Darstellung der Altersverteilung in den einzelnen Stadien; auf der horizontalen Achse sind die verschiedenen Stadien, auf der vertikalen Achse das Alter in Jahren dargestellt (oranjer Punkt = statistisch signifikant gegenüber der gesunden Gruppe).

Die Geschlechtsverteilung (Tab. 13) präsentierte sich außer in der noch normalen Gruppe, in der 44,4 % der Tiere Hündinnen und 55,6 % Rüden waren, relativ inhomogen. In der gesunden Gruppe waren 64,3 % der Tiere weiblich und 37,7 % männlich, in derjenigen mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen waren 60,0 % weiblich und 40,0 % männlich. Von den Hunden, die ausschließlich echokardiographische Veränderungen aufwiesen, waren 30,0 % Hündinnen und 70,0 % Rüden, in der Gruppe mit ventrikulären Extrasystolen und echokardiographischen Veränderungen 31,6 % Hündinnen und 68,4 % Rüden und im dekompensierten Stadium 18,2 % weiblich und 81,8 % männlich.

Tabelle 13: Geschlechtsverteilung und mittleres Alter der Einzeltiere in den einzelnen Stadien.

		gesund	noch normal	nur VES	nur Echo	VES+ Echo	dekompensiert
Geschlecht	weiblich	154	8	24	6	6	2
	männlich	96	10	16	14	13	9
Alter in Jahren	weiblich	4,1	7,1	6,3	8,1	8,6	7,6
	männlich	4,1	4,9	5,7	5,3	6,9	7,6
gesamt		250	18	40	20	19	11

Das Alter der männlichen und weiblichen Tiere innerhalb der jeweiligen Gruppen unterschied sich nicht statistisch signifikant (Tab. 13 und 14). Jedoch zeigte sich generell ein Trend zu jüngeren Rüden. Bei den noch gesunden Hunden waren die Hündinnen im Mittel 7,1 Jahre alt (Median 7 Jahre), die Rüden waren in dieser Gruppe durchschnittlich 4,9 Jahre alt (Median 5 Jahre). In der Gruppe mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen waren die Hündinnen durchschnittlich 6,3 Jahre alt, (Median 7 Jahre), die Rüden im Mittel 5,7 Jahre (Median 5 Jahre); in der Gruppe mit ausschließlich echokardiographischen Veränderungen waren die Hündinnen erst im Alter ab 5,6 Jahren (Mean 8,1 Jahre, Median 8 Jahre) vertreten, die Rüden bereits ab 2,3 Jahren (Mean 5,3 Jahre, Median 4 Jahre). Der gleiche Trend zeigte sich in der Gruppe mit ventrikulären Extrasystolen und echokardiographischen Veränderungen ($p = 0,05$), hier waren die Hündinnen 6,9 Jahre und älter (Mean 8,6 Jahre, Median 8 Jahre), der jüngste Rüde 2,5 Jahre (Mean 6,9 Jahre, Median 7 Jahre) alt. Im dekompensierten Stadium hingegen betrug das Alter sowohl der Hündinnen als auch der Rüden durchschnittlich 7,6 Jahre, allerdings waren in dieser Gruppe nur zwei Hündinnen vertreten. Betrachtete man das Alter der Patienten in der erkrankten Gesamtgruppe, so gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Geschlechtern.

1.2. Echokardiographische Parameter

Die Ergebnisse der echokardiographischen Untersuchungen (EDD, ESD, FS, LA, Ao, EDV, ESV, EF) der gesunden Hunde und in den einzelnen Stadien der Erkrankung finden sich im Anhang in den Tabellen 2, 3 und 4. Diese Messungen wurden in der rechtsparasternalen Längsachse und dem linksapikalen Vierkammerblick durchgeführt. Das Verhältnis vom linken Atrium zur Aorta (LA/Ao) wurde von rechts parasternal im zweidimensionalen Bild gemessen und ist im Anhang in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 14: Altersverteilung der Einzeltiere in Abhängigkeit vom Geschlecht in den einzelnen Stadien (mean = Mittelwert, Median, min = Minimum, max = Maximum).

		Alter in Jahren			
		mean	median	min	max
gesund	Hündinnen	4,1	3,5	1,0	11,3
	Rüden	4,1	3,5	1,0	9,3
noch normal	Hündinnen	7,1	7,1	2,3	12,0
	Rüden	4,9	4,9	1,4	8,0
VES	Hündinnen	6,3	6,9	1,5	12,8
	Rüden	5,7	4,6	1,0	12,5
Echo	Hündinnen	8,1	7,5	5,6	11,5
	Rüden	5,3	3,6	2,3	11,4
Echo + VES	Hündinnen	8,6	8,2	6,9	10,3
	Rüden	6,9	7,2	2,5	10,8
dekompensiert	Hündinnen	7,6	7,6	5,0	10,2
	Rüden	7,6	7,8	3,6	11,1

Ausschließlich echokardiographische Veränderungen

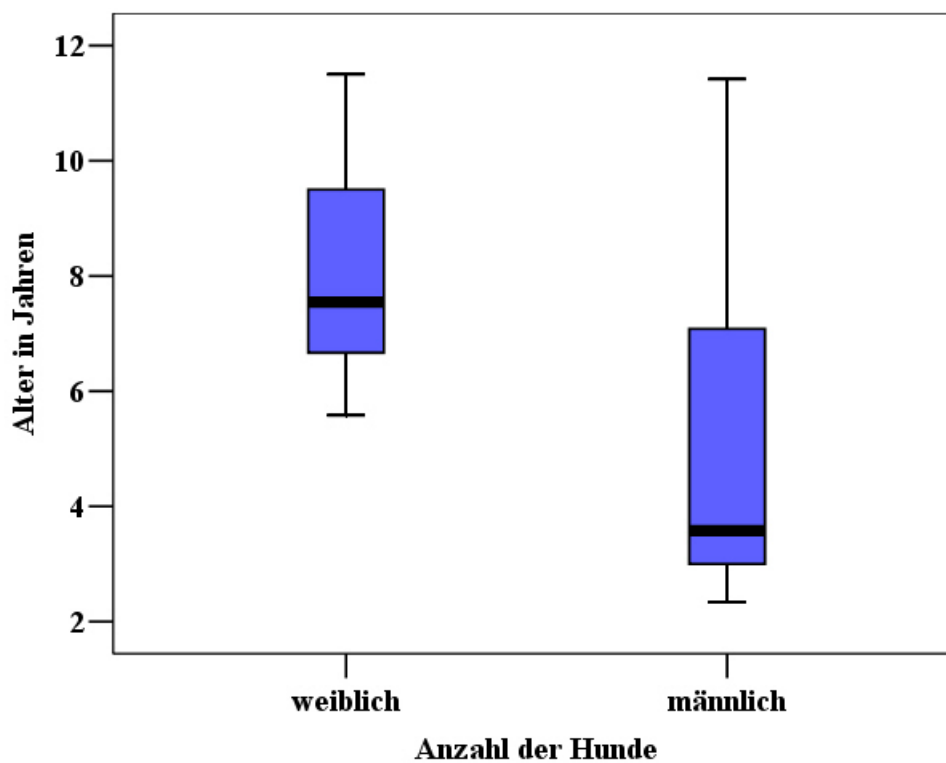


Abbildung 6: Darstellung der Altersverteilung bei Hündinnen und Rüden in der Gruppe mit ausschließlich echokardiographischen Veränderungen.

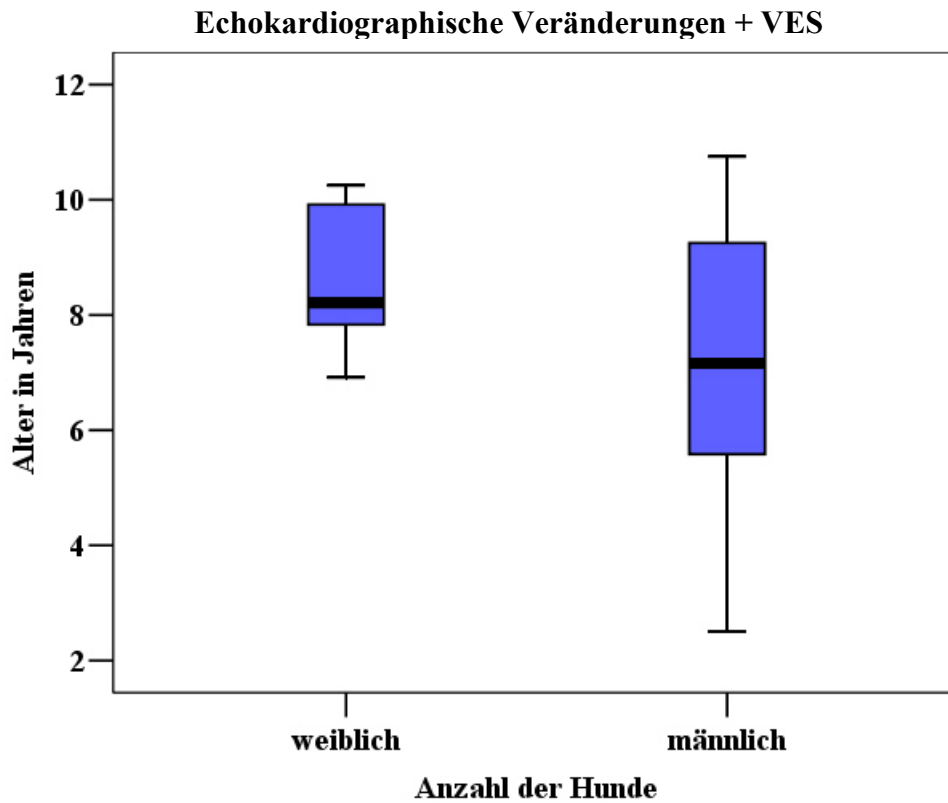


Abbildung 7: Darstellung der Altersverteilung bei Hündinnen und Rüden in der Gruppe mit echokardiographischen Veränderungen und ventrikulären Extrasystolen.

1.3. 24-Stunden-EKG

Die Ergebnisse der elektrokardiographischen Langzeituntersuchungen finden sich im Anhang in Tabelle 6. Im dekompensierten Stadium hatte eine Hündin Vorhofflimmern, drei weitere Patienten zeigten weniger als 100 ventrikuläre Extrasystolen in 24 Stunden. Diese Hunde wiesen ausschließlich echokardiographische Veränderungen im Sinne einer klassischen dilatativen Kardiomyopathie auf.

2. NTpro-BNP

2.1. Einflussfaktoren

In der gesunden Kontrollgruppe wurde der Einfluss von Alter, Geschlecht und Gewicht auf die NTpro-BNP Konzentration untersucht. Es wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede innerhalb der jeweiligen Alters- und Gewichtgruppen respektive zwischen Rüden und Hündinnen festgestellt, wie die Abbildungen 8, 9 und 10 verdeutlichen.

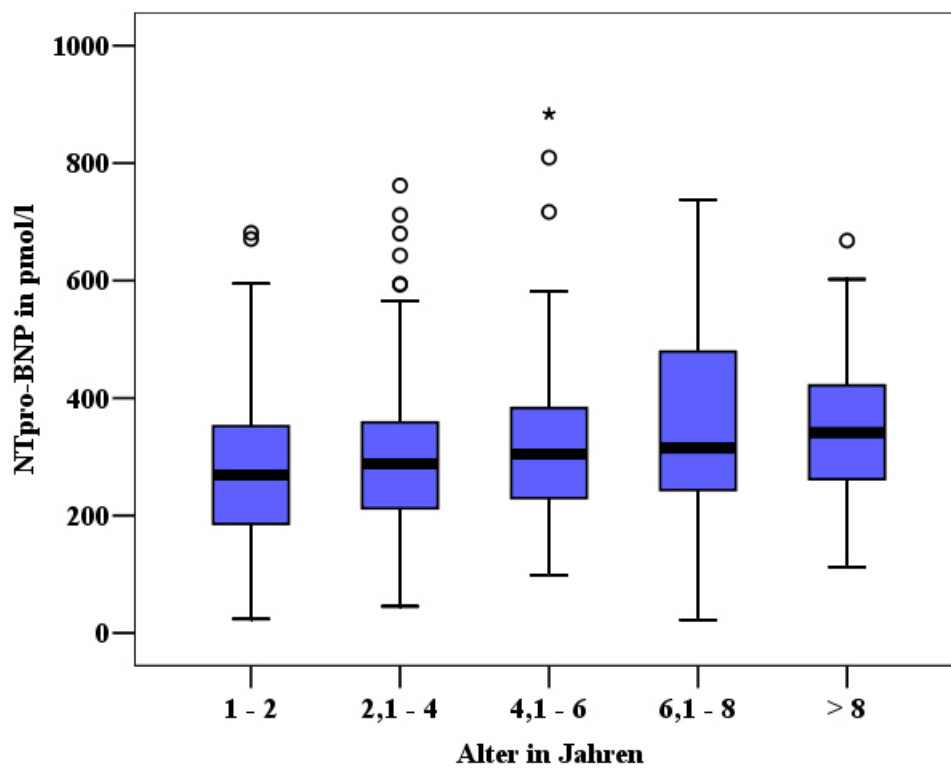


Abbildung 8: Darstellung der mittleren NTpro-BNP-Konzentrationen der jeweiligen Altersgruppen innerhalb der gesunden Kontrollgruppe.

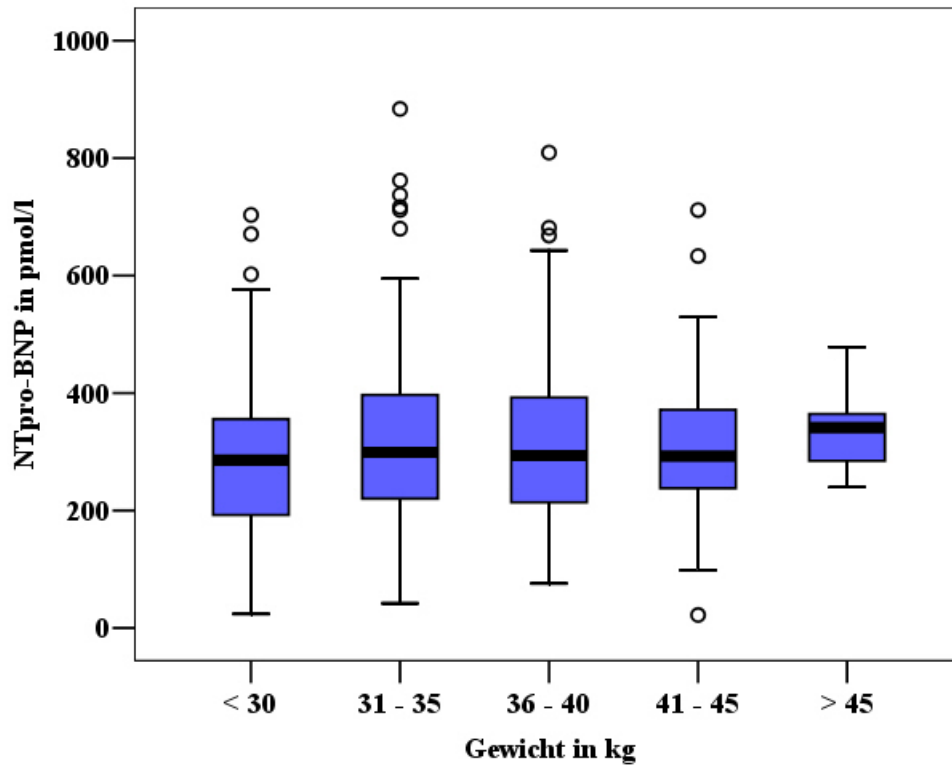


Abbildung 9: Darstellung der mittleren NTpro-BNP Konzentrationen der jeweiligen Gewichtsgruppen innerhalb der gesunden Kontrollgruppe.

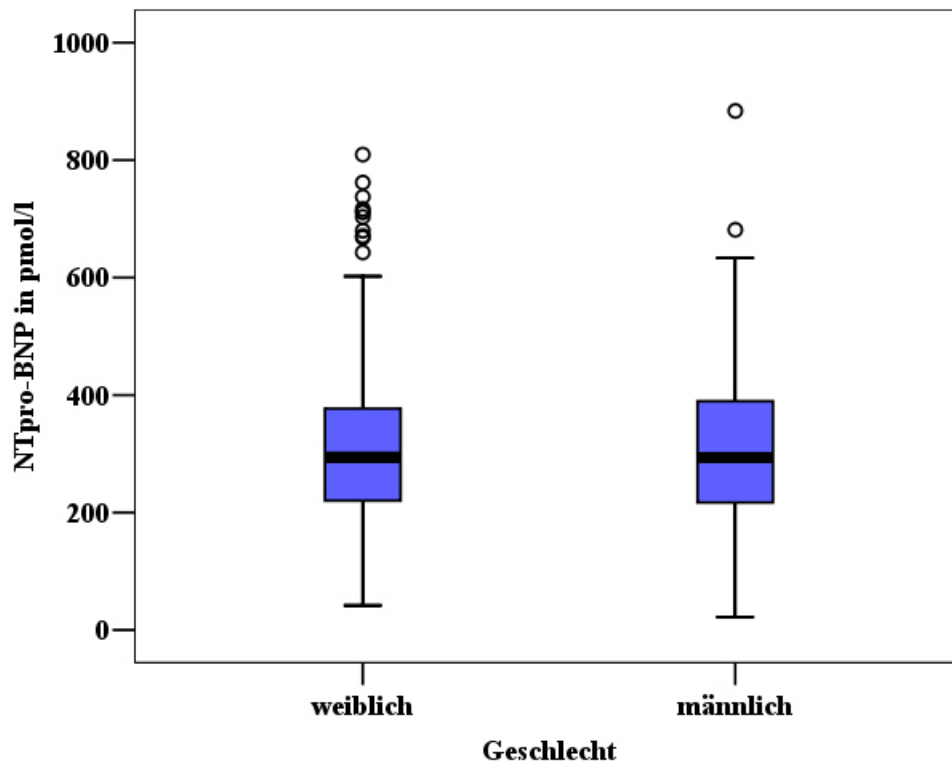


Abbildung 10: Darstellung der mittleren NTpro-BNP Konzentrationen der Hündinnen und Rüden innerhalb der gesunden Kontrollgruppe.

2.2. Referenzwert

Der Referenzwert wurde anhand der herzgesunden Gruppe aus der Studienpopulation berechnet. Der Mittelwert betrug 315,7 pmol/l, die Standardabweichung $\pm 147,8$ pmol/l. Das 95 %-Konfidenzintervall für den Mittelwert lag bei 299,1 pmol/l (Untergrenze) respektive 331,3 pmol/l (Obergrenze). Insgesamt lagen die Messwerte zwischen 22,1 pmol/l (Minimum) und 883,7 pmol/l (Maximum). Statistisch gesehen liegen etwa 2/3 aller Werte im Bereich zwischen Mittelwert – Standardabweichung und Mittelwert + Standardabweichung. Als Referenzwert (= Mittelwert ± 2 x Standardabweichung) kann somit 315,7 pmol/l $\pm 295,6$ pmol/l errechnet werden. Zwischen den Grenzen 20,1 pmol/l und 611,3 pmol/l liegen ungefähr 95 % aller Werte der herzgesunden Hunde.

Die Hündinnen wiesen eine mittlere NTpro-BNP-Konzentration von 318,0 \pm 149,1 pmol/l auf, das 95 %-Konfidenzintervall betrug 294,3 – 341,7 pmol/l; Median 299,1 pmol/l, Minimum 53,0 pmol/l, Maximum 809,5 pmol/l. Rüden besaßen eine mittlere NTpro-BNP-Konzentration von 324,2 pmol/l, das 95 %-Konfidenzintervall lag bei 296,5 – 352,0 pmol/l; Median 301,3 pmol/l, Minimum 23,9 pmol/l, Maximum 883,7 pmol/l.

2.3. Vergleich der Krankheitsstadien

NTpro-BNP wurde sowohl bei gesunden Hunden als auch bei denen in den verschiedenen okkulten Stadien sowie im dekompenzierten Stadium untersucht. In Tabelle 15 sind die Mittelwerte (Mean) der verschiedenen Gruppen sowie der Medianwert, Standardabweichung, Minimal- und Maximalwert jeweils in pmol/l angegeben.

Tabelle 15: Darstellung der NTpro-BNP-Werte bezogen auf die einzelnen Gruppen (mean = Mittelwert, std = Standardabweichung, min = Minimum, max = Maximum).

in pmol/l:	mean	median	std	min	max
gesund	315,74	294,0	147,8	22,1	883,7
noch normal	499,67	541,1	173,0	221,7	759,2
VES	469,89	457,8	233,7	143,9	1281,8
Echo- veränderungen	945,95	704,1	738,6	198,0	3000,0
VES + Echo- veränderungen	808,54	811,5	366,8	165,2	1464,2
dekompensiert	2632,57	2990,7	530,5	1587,4	3000,0

Der Mittelwert für die gesamte okkulte Gruppe betrug $636,0 \pm 445,4$ pmol/l, das 95 %-Konfidenzintervall $561,5 - 710,4$ pmol/l, der Medianwert $521,9$ pmol/l. Beim Mehrfachvergleich (nach Bonferroni) der Mittelwerte der einzelnen Gruppen untereinander wurden folgende statistisch signifikante Unterschiede festgestellt: die gesunde Gruppe wies mit einem Mittelwert von $315,74$ pmol/l eine signifikant niedrigere Konzentration an NTpro-BNP auf als die Gruppen mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen ($469,89$ pmol/l), mit ausschließlich echokardiographischen Veränderungen ($945,95$ pmol/l), mit beiden Veränderungen ($808,54$ pmol/l) und der dekompensierten Hunde ($2632,57$ pmol/l). Obwohl die noch normale Gruppe mit $499,67$ pmol/l eine höhere mittlere NTpro-BNP-Konzentration aufwies als die Gruppe mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen ($469,89$ pmol/l), erreichte der Unterschied zur gesunden Gruppe keine statistische Signifikanz (Abb. 11). Die Gruppen der erkrankten Hunde zeigten untereinander ebenfalls statistisch signifikante Unterschiede in ihrer mittleren NTpro-BNP-Konzentration, wie die Abbildungen 12 bis 14 verdeutlichen. Die noch normale Gruppe zeigte nur gegenüber den gesunden Hunden sowie denen mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen keinen signifikanten Unterschied. Zwischen den beiden Gruppen mit

echokardiographischen Veränderungen ließ sich ebenfalls kein statistisch signifikanter Unterschied nachweisen.

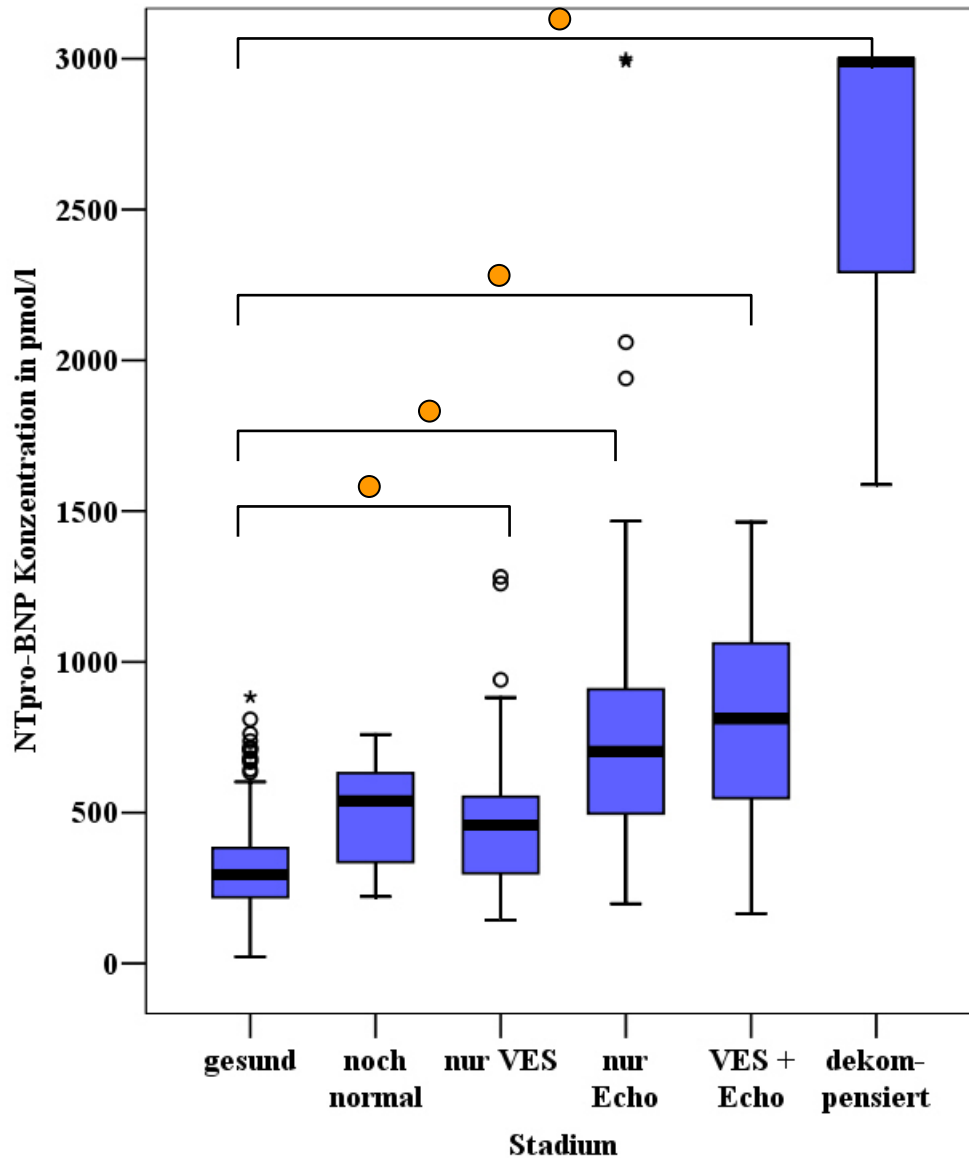


Abbildung 11: Darstellung der mittleren NTpro-BNP-Konzentrationen in den einzelnen Gruppen. Statistisch signifikante Unterschiede zur gesunden Gruppe sind mit eckigen Klammern und orangenen Punkten dargestellt.

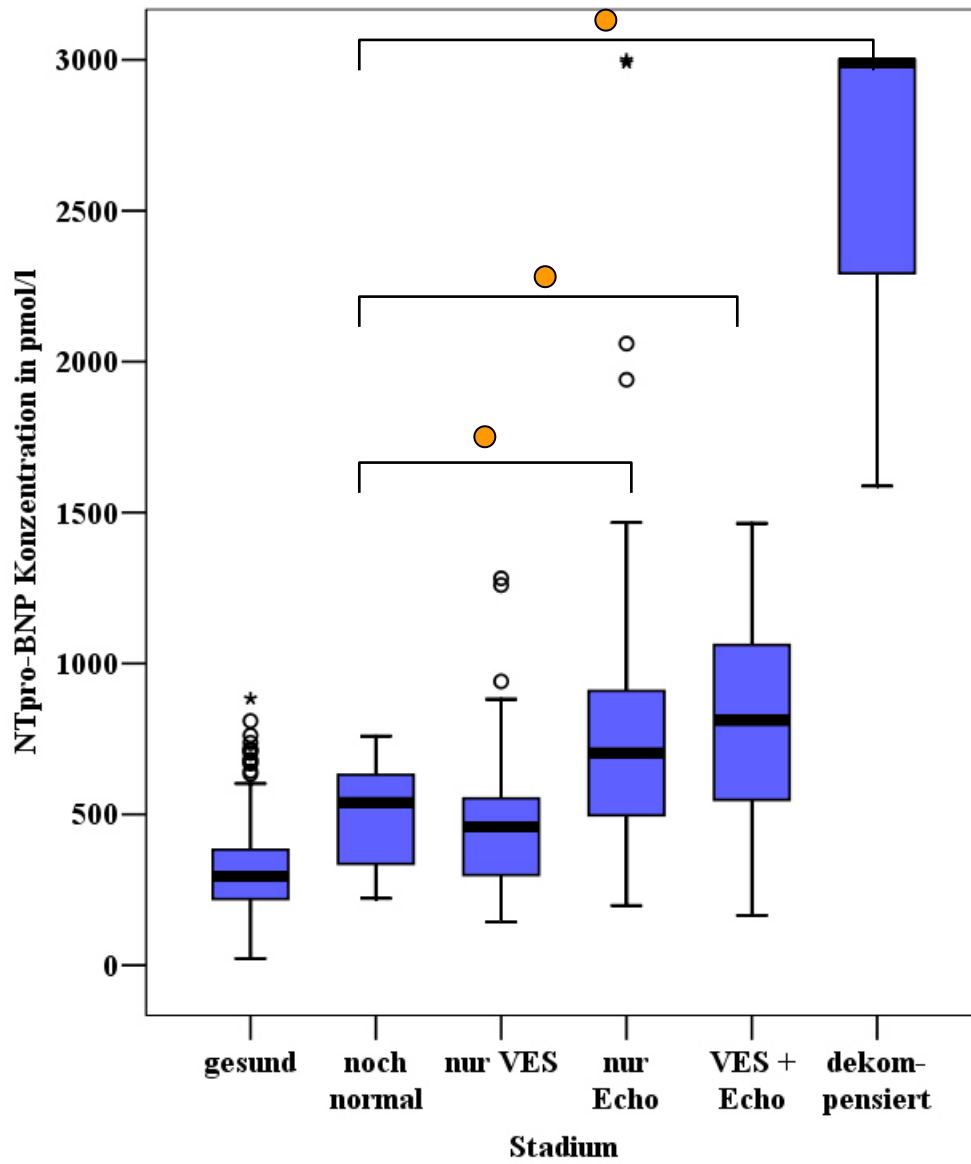


Abbildung 12: Darstellung der mittleren NTpro-BNP-Konzentrationen in den einzelnen Gruppen. Statistisch signifikante Unterschiede zur noch normalen Gruppe sind mit eckigen Klammern und orangenen Punkten dargestellt.

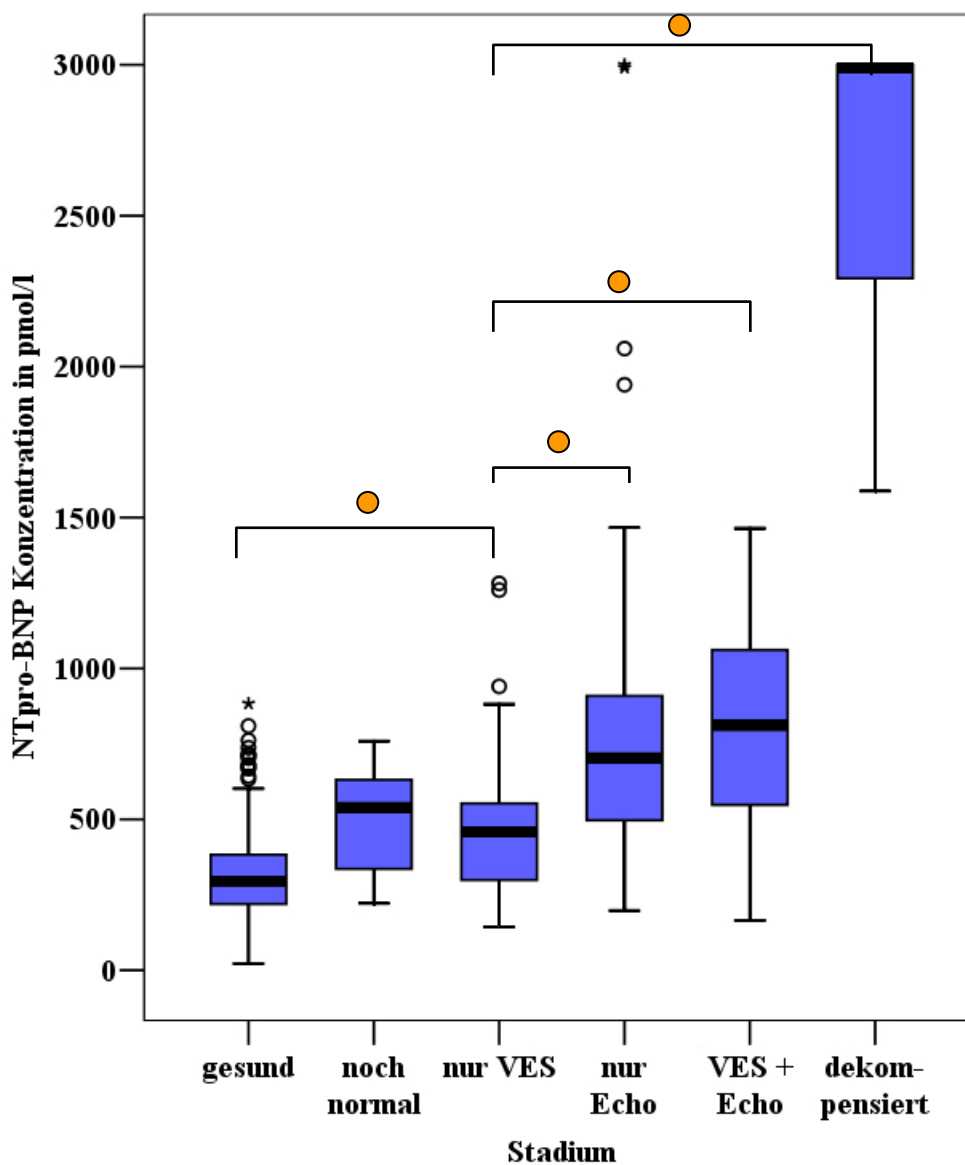


Abbildung 13: Darstellung der mittleren NTpro-BNP-Konzentrationen in den einzelnen Gruppen. Statistisch signifikante Unterschiede zur Gruppe mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen sind mit eckigen Klammern und orangen Punkten dargestellt.

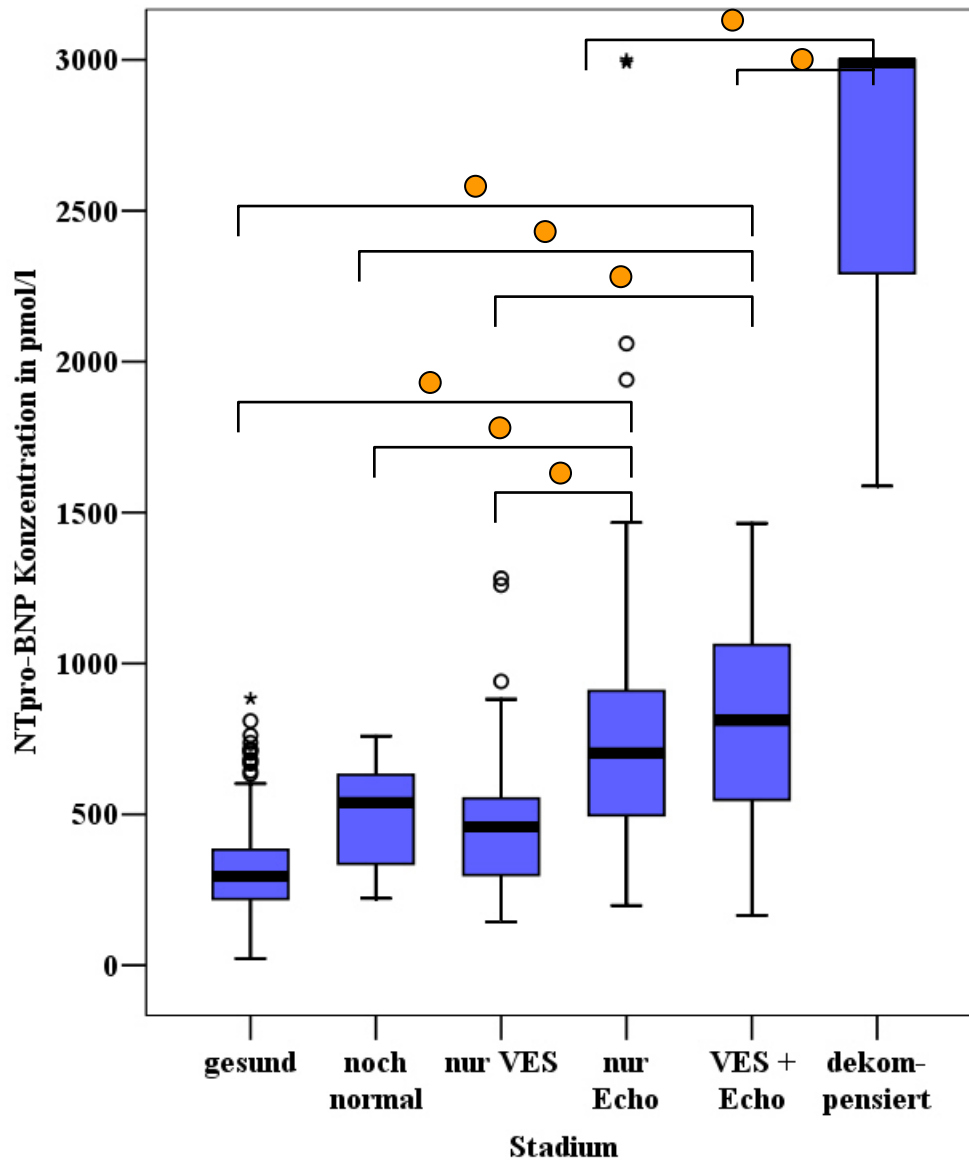


Abbildung 14: Darstellung der mittleren NTpro-BNP-Konzentrationen in den einzelnen Gruppen. Statistisch signifikante Unterschiede zu den beiden okkulten Gruppen mit echokardiographischen Veränderungen sind mit eckigen Klammern und orangen Punkten dargestellt.

Bei dem errechneten optimalen Grenzwert von 413,3 pmol/l ließen sich alle Hunde mit echokardiographischen Veränderungen mit einer Sensitivität von 90,0 % und einer Spezifität von 80,2 % von den herzgesunden Hunden unterscheiden. Die ROC-Kurve wies dabei eine Area under the curve (AUC) von 0,918 auf (Abb. 15 und 16).

Das dekompensierte Stadium ist klinisch gut zu diagnostizieren. Daher wurde die Berechnung von Sensitivität und Spezifität zur Differenzierung von herzgesunden Hunden und denen mit echokardiographischen Veränderungen unter Ausschluss des dekompensierten Stadiums durchgeführt. Die AUC betrug hierbei 0,90. Bei

einem Cut-off von 413,3 pmol/l erreichte die Sensitivität 87,7 %, die Spezifität 80,2 % (Abb. 17 und 18).

Fasst man alle an Kardiomyopathie erkrankten Hunde zusammen (mit VES, mit Echoveränderungen, mit VES und Echoveränderungen und dekompensiert), so erreicht der Test bei gleichem Grenzwert und gleichen Spezifität eine Sensitivität von 73,1 %. Hier ergab sich eine AUC von 0,820. Der errechnete optimale Cut-off lag für diese Differenzierung bei 398,7 pmol/l mit einer Sensitivität von 76,1 % und einer Spezifität von 78,1 % (Abb. 19 und 20).

Für die Unterscheidung zwischen den gesunden Hunden und denjenigen mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen betrug die Sensitivität 64,1 % und die Spezifität 73,9 % bei dem errechneten optimalen Cut-off von 371,6 pmol/l; die AUC betrug 0,712. Bei einem Cut-off von 413,3 pmol/l und einer Spezifität von 80,2 % lag die Sensitivität bei 54,7 %. Bei einem Cut-off von 300 pmol/l ließe sich eine Sensitivität zur Erkennung von Hunden mit ventrikulären Extrasystolen von 75,0 % erreichen, die Spezifität läge dann allerdings nur noch bei 53,8 % (Abb. 21 und 22).

Fasst man alle okkult erkrankten Hunde zusammen, so erreicht die AUC 0,801 zur Differenzierung gesunder Hunde von okkult an Kardiomyopathie erkrankten Tieren. Der optimale Cut-off lag bei 398,7 pmol/l und erreichte eine Sensitivität von 73,6 % sowie eine Spezifität von 78,1 %. Bei einem Cut-off von 413,3 pmol/l betragen Sensitivität und Spezifität 70,2 % und 80,2 % (Abb. 23 und 24). In Tabelle 16 sind Spezifität und Sensitivität für die verschiedenen Cut-off-Werte und Stadien zusammengefasst.

Tabelle 16: Darstellung der Sensitivität und Spezifität für verschiedene Cut-off-Werte zur Unterscheidung von verschiedenen Krankheitsstadien der Kardiomyopathie beim Dobermann bezogen auf die gesunde Kontrollgruppe (AUC = area under the receiver operator curve, Sens = Sensitivität, Spez = Spezifität, dekomp = dekompensiert, KM = Kardiomyopathie).

Differenzierung von gesunden Hunden und:	AUC	Cut-off 413,3 pmol/l		Cut-off 398,7 pmol/l	
		Sens	Spez	Sens	Spez
Alle mit Echoveränd.	0,918	90,0 %	80,2 %	91,4 %	78,1 %
Echoveränd. ohne dekomp	0,900	87,7 %	80,2 %	89,5 %	78,1 %
Alle an KM erkrankt	0,820	73,1 %	80,2 %	76,1 %	78,1 %
Alle okkult	0,801	70,2 %	80,2 %	73,6 %	78,1 %
Nur VES	0,721	54,7 %	80,2 %	59,4 %	78,1 %
		64,1 %	73,9 %	Optimaler Cut-off 371,6 pmol/l	
		75,0 %	53,8%	Cut-off 300 pmol/l	

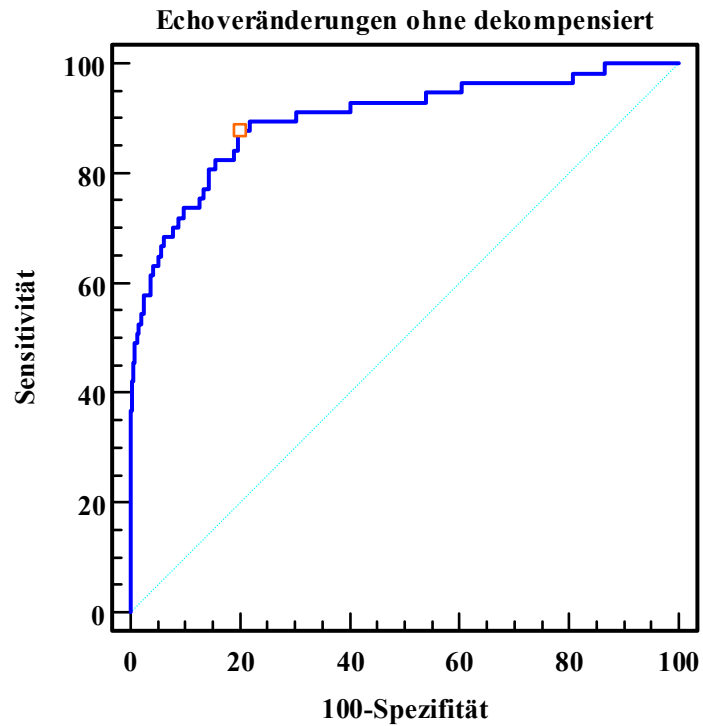


Abbildung 17: ROC-Kurve zur Differenzierung der gesunden Hunde und Hunde mit echokardiographischen Veränderungen unter Ausschluss des dekompensierten Stadiums. AUC = 0,900.

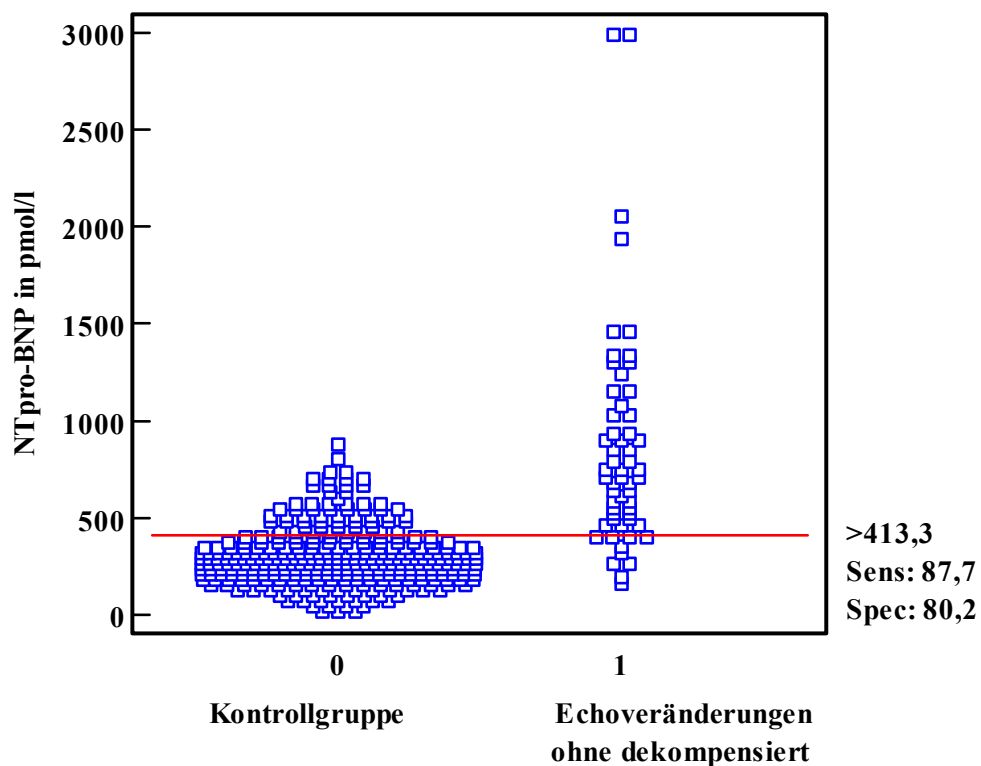


Abbildung 18: Dot-Diagramm zur Darstellung von Sensitivität und Spezifität zur Differenzierung der gesunden Hunde und Hunde mit echokardiographischen Veränderungen unter Ausschluss des dekompensierten Stadiums bei einem Cut-off von 413,3 pmol/l. (0 = gesunde Kontrollgruppe, 1 = Gruppe mit echokardiographischen Veränderungen).

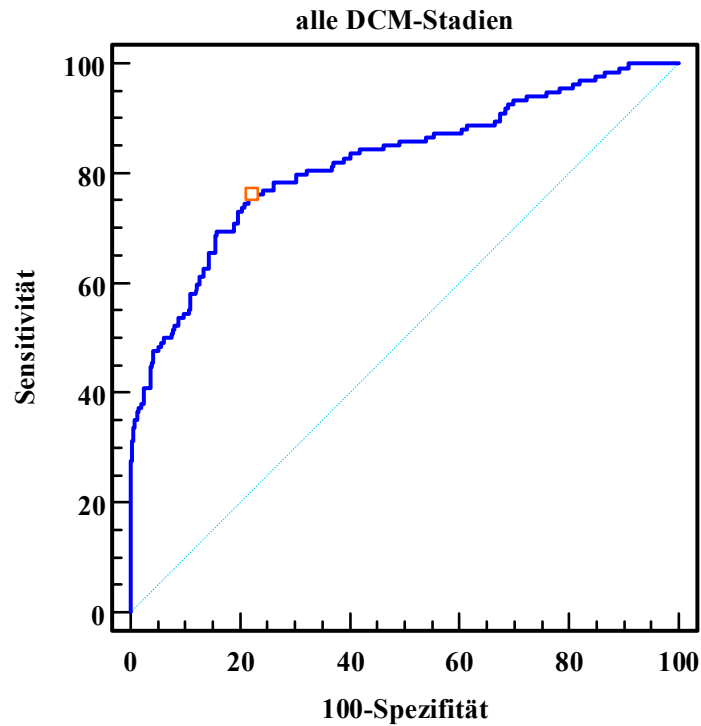


Abbildung 19: ROC-Kurve zur Differenzierung der gesunden Hunde und allen an Kardiomyopathie erkrankten Hunden. AUC = 0,820.

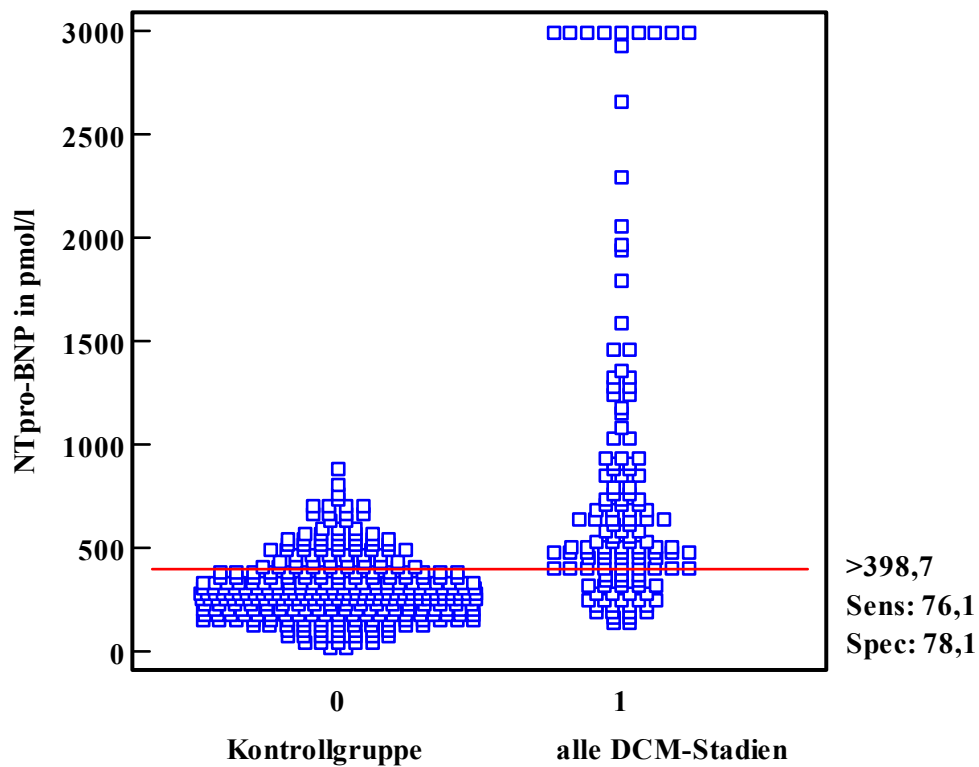


Abbildung 20: Dot-Diagramm zur Darstellung von Sensitivität und Spezifität zur Differenzierung der gesunden Hunde und allen an Kardiomyopathie erkrankten Hunden bei einem Cut-off von 398,7 pmol/l. (0 = gesunde Kontrollgruppe, 1 = alle an Kardiomyopathie erkrankten Hunde).

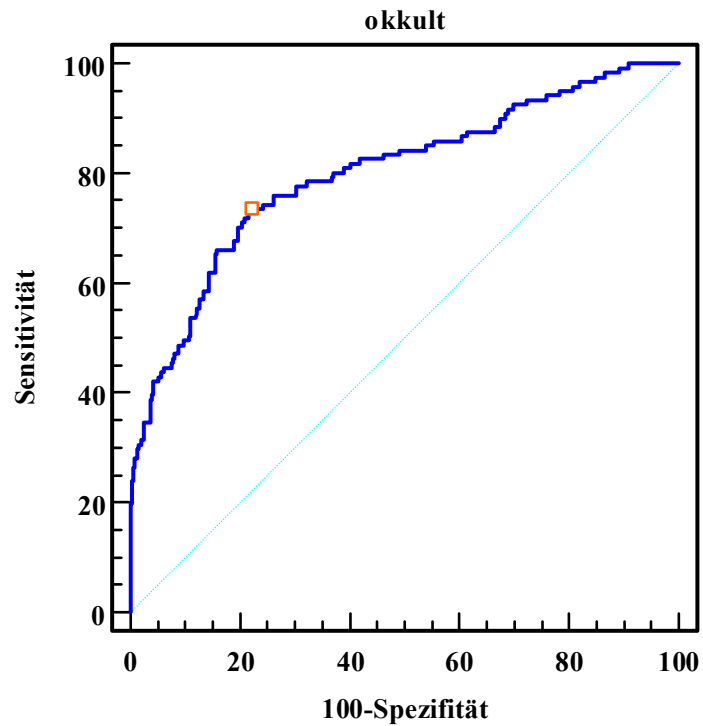


Abbildung 21: ROC-Kurve zur Differenzierung der gesunden Hunde und allen okkult erkrankten Hunden. AUC = 0,801

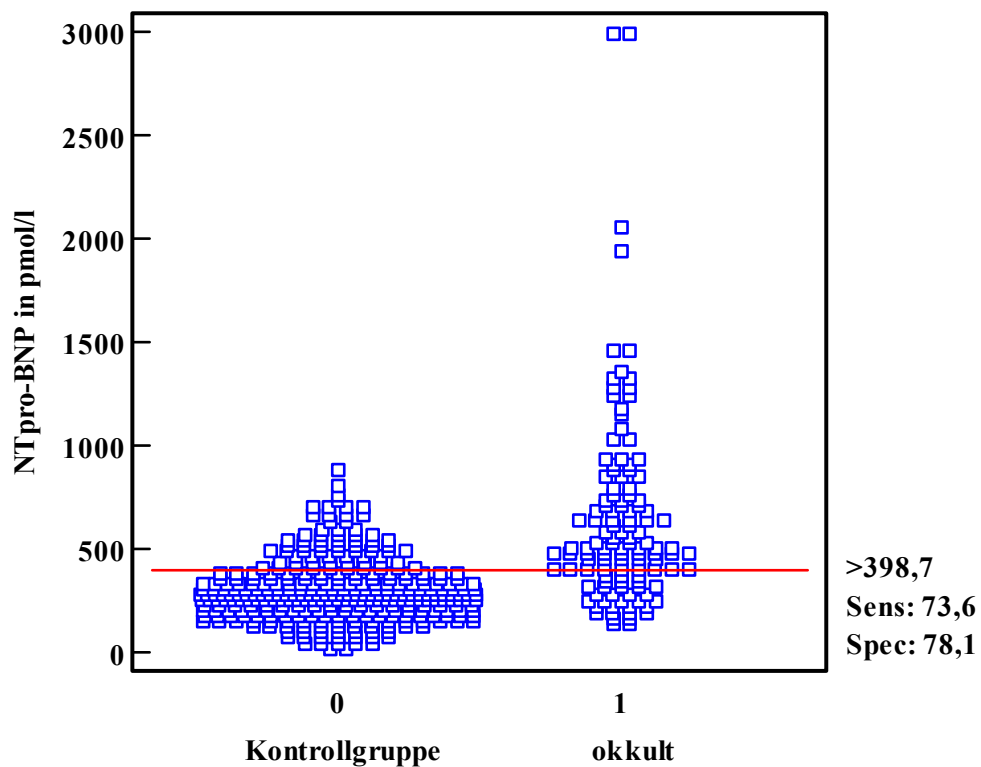


Abbildung 22: Dot-Diagramm zur Darstellung von Sensitivität und Spezifität zur Differenzierung der gesunden Hunde und allen okkult erkrankten Hunden bei einem Cut-off von 398,7 pmol/l. (0 = gesunde Kontrollgruppe, 1 = alle erkrankten Hunde).

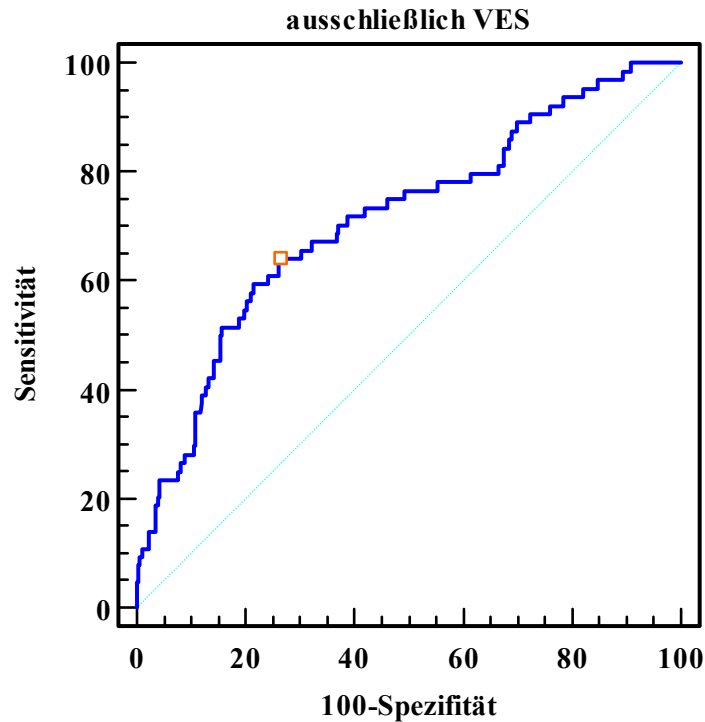


Abbildung 23: ROC-Kurve zur Differenzierung der gesunden Hunde und Hunden mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen. AUC=0,712.

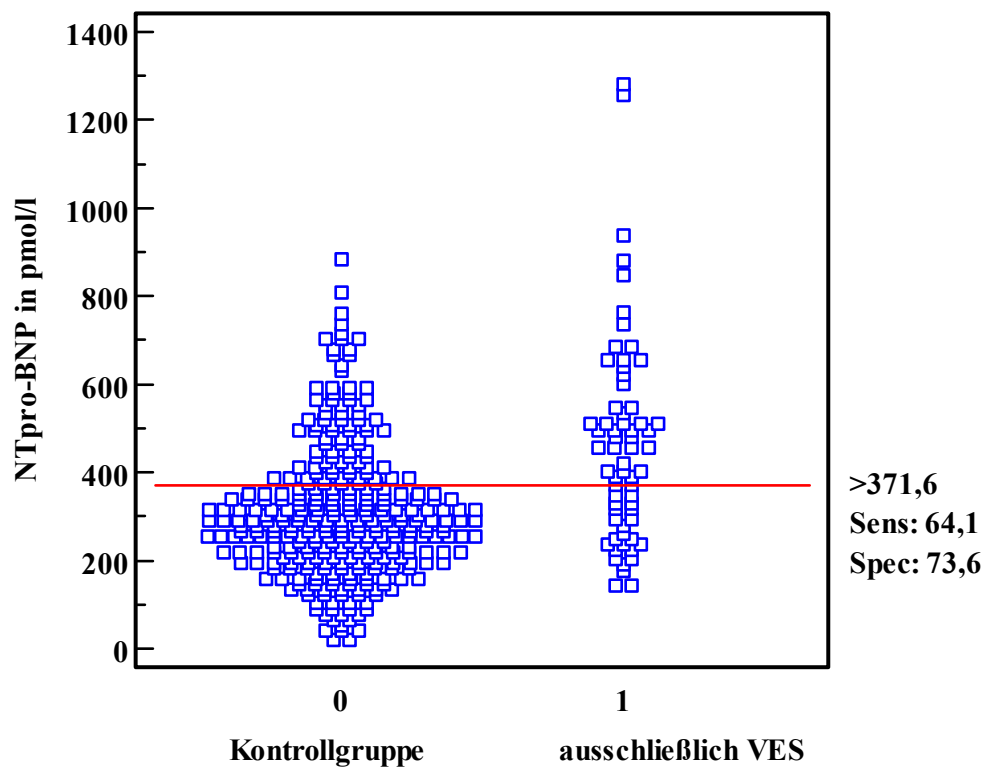


Abbildung 24: Dot-Diagramm zur Darstellung von Sensitivität und Spezifität zur Differenzierung der gesunden Hunde und Hunden mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen bei einem Cut-off von 371,6 pmol/l. (0 = gesunde Gruppe, 1 = Gruppe mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen).

2.4. Prädiktive Werte

Die Prävalenz der Erkrankung innerhalb der Studienpopulation betrug 25,15 %. Bei dem gewählten Cut-off von 413,3 pmol/l betrug der positive prädiktive Wert (PPV) 60,24 %, der negative prädiktive Wert (NPV) lag bei 96,01 % für die Erkennung von Hunden mit echokardiographischen Veränderungen.

Von der gesunden Kontrollgruppe ließen sich die verschiedenen Krankheitsstadien wie folgt unterscheiden: für Hunde mit echokardiographischen Veränderungen unter Ausschluss der dekompensierten Gruppe ergab sich bei einem Grenzwert von 413,3 pmol/l ein PPV von 59,9 % und ein NPV von 95,1 %. Für die Gruppe mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen betrugen bei gleichem Cut-off der PPV 47,94 % und der NPV 84,16 %. Bei dem für diese Gruppe ermittelten optimalen Cut-off von 371,6 pmol/l lagen PPV und NPV bei 45,01 % respektive 86,06 %. Der Grenzwert von 300 pmol/l, der eine Sensitivität von 75 % zur Differenzierung von Hunden mit VES und gesunden Hunden besitzt, zeigte ein PPV von 35,3 % und ein NPV von 86,5 %.

Für die Unterscheidung von allen an Kardiomyopathie erkrankten Hunden und der gesunden Gruppe ergaben sich für den Cut-off von 413,3 pmol/l ein PPV von 54,93 % und ein NPV von 89,71 %. Zur Erkennung aller okkult erkrankten Hunde, also sowohl mit pathologischen elektrophysiologischen als auch echokardiographischen Veränderungen, konnten für den Cut-off von 413,3 pmol/l ein PPV von 54,4 % und ein NPV von 88,9 % ermittelt werden. In den Tabellen 16 und 17 sind die prädiktiven Werte zusammengefasst.

Tabelle 16: Darstellung der Prädiktiven Werte sowie Sensitivität und Spezifität für den Cut-off-Wert von 413,3 pmol/l zur Unterscheidung von verschiedenen Krankheitsstadien der Kardiomyopathie beim Dobermann bezogen auf die gesunde Kontrollgruppe. Bei der Gruppe mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen sind zusätzlich der errechnete optimale Cut-off und der Cut-off für eine Sensitivität von 75 % angegeben (AUC = area under the receiver operator curve, Sens = Sensitivität, Spez = Spezifität, PPV = positiver prädiktiver Wert, NPV = negativer Prädiktiver Wert, decomp = dekompensiert, KM = Kardiomyopathie).

Differenzierung von gesunden Hunden und:	AUC	Cut-off 413,3 pmol/l			
		Sens	Spez	PPV	NPV
Alle mit Echoveränd.	0,918	90,0 %	80,2 %	60,4 %	96,0 %
Echoveränd. ohne decomp	0,900	87,7 %	80,2 %	59,9 %	95,1 %
Alle an KM erkrankt	0,820	73,1 %	80,2 %	55,4 %	89,9 %
Alle okkult	0,801	70,2 %	80,2 %	54,4 %	88,9 %
Nur VES	0,721	54,7 %	80,2 %	48,1 %	84,1 %
		Cut-off 371,6 pmol/l			
		64,1 %	73,9 %	45,2 %	86,0 %
		Cut-off 300 pmol/l			
		75,0 %	53,8%	35,3 %	86,5 %

Tabelle 17: Darstellung der Prädiktiven Werte sowie Sensitivität und Spezifität für den Cut-off-Wert von 398,7 pmol/l zur Unterscheidung von verschiedenen Krankheitsstadien der Kardiomyopathie beim Dobermann bezogen auf die gesunde Kontrollgruppe (AUC = area under the receiver operator curve, Sens = Sensitivität, Spez = Spezifität, PPV = positiver prädiktiver Wert, NPV = negativer Prädiktiver Wert, decomp = dekompensiert, KM = Kardiomyopathie).

Differenzierung von gesunden Hunden und:	AUC	Cut-off 398,7 pmol/l			
		Sens	Spez	PPV	NPV
Alle mit Echoveränd.	0,918	91,4 %	78,1 %	58,4 %	96,4 %
Echoveränd. ohne decomp	0,900	89,5 %	78,1 %	57,9 %	95,7 %
Alle an KM erkrankt	0,820	76,1 %	78,1 %	53,9 %	90,7 %
Alle okkult	0,801	73,1 %	78,1 %	53,0 %	89,9 %
Nur VES	0,721	59,4 %	78,1 %	47,7 %	85,1 %

2.5. Korrelation mit echokardiographischen Parametern

Folgende echokardiographischen Parameter wurden hinsichtlich ihrer Korrelation mit NTpro-BNP untersucht: die Durchmesser von linkem Atrium und Aorta, das Verhältnis von beidem, die enddiastolischen und endsystolischen Durchmesser, die Verkürzungsfraction, die enddiastolischen und endsystolischen Volumina und die Ejektionsfraktionen. Alle Parameter ($p < 0,001$) außer dem Durchmesser der Aorta ($p = 0,301$) korrelierten signifikant mit der NT-proBNP Konzentration. Die Korrelationskoeffizienten und Determinationskoeffizienten (r^2) sind in Tabelle 16 aufgeführt. Abbildung 19 zeigt ein Streudiagramm, das die Korrelation und die Regressionsgerade von NTpro-BNP und dem endsystolischen Volumen der biplanen Kalkulation graphisch darstellt. Die Streudiagramme zu den anderen untersuchten Parametern sind im Anhang als Abb. 4 – 18 zu finden.

Tabelle 18: Darstellung der Korrelationskoeffizienten für die jeweiligen echokardiographischen Parameter.

		Korrelationskoeffizient nach Pearson	Determinations- koeffizient r²
Rechtsparasternale Längsachse	EDD	0,651	0,426
	ESD	0,696	0,484
	FS	-0,549	0,303
Rechtsparasternale Längsachse (Simpson-Methode)	EDV	0,727	0,531
	ESV	0,759	0,576
	EF	-0,550	0,304
Linksapikaler Vierkammerblick (Simpson-Methode)	EDV	0,707	0,500
	ESV	0,738	0,545
	EF	-0,462	0,213
Biplan (Simpson-Methode)	EDV	0,734	0,539
	ESV	0,764	0,584
	EF	-0,455	0,206
Rechtsparasternale Längsachse	Aorta	-0,048	0,002
	LA	0,525	0,275
	LA/Ao	0,630	0,397

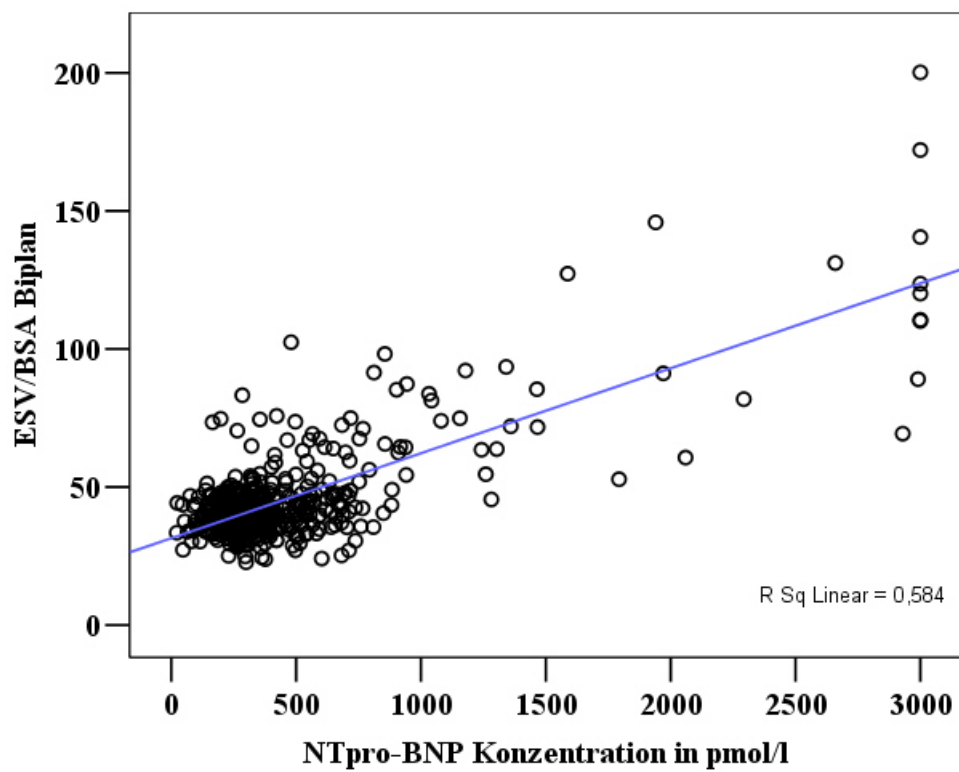


Abbildung 19: Streudiagramm zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem endsystolischen Volumen bezogen auf die Körperoberfläche in ml/m², biplane Berechnung.

V. DISKUSSION

Gewöhnlich müssen neue Tests vor ihrem diagnostischen Einsatz evaluiert werden. In vorliegender Studie wurde keine Validation des ELISA VETSIGN™ Canine CardioSCREEN Ntpro-BNP, Guildhay Ltd., UK vorgenommen. Neben den vom Hersteller angegebenen Variationskoeffizienten der Intra- und Inter-Assay-Präzision (siehe III. 6.1., Seite 56) wurden Untersuchungen zur Validation von BOSWOOD und Mitarbeitern (2008) sowie ZIEBA und Mitarbeitern (2009) durchgeführt (siehe II. 3., Seite 26). Da die Angaben des Herstellers auf den Untersuchungen von BOSWOOD und Mitarbeitern (2008) basieren, stimmen hier die Variationskoeffizienten überein. ZIEBA und Mitarbeiter (2009) allerdings stellten größere Abweichungen, vor allem im niedrigen Konzentrationsbereich, fest. Die Variationskoeffizienten der Intra- und Inter-Assay-Präzision lagen insgesamt für Konzentrationen > 800 pmol/l unter 10 % und sind damit sehr zufriedenstellend. Für Konzentrationen < 800 pmol/l erzielten BOSWOOD und Mitarbeitern (2008) ebenfalls Intra- und Inter-Assay-Präzisionen unter 10 %, ZIEBA und Mitarbeiter (2009) hingegen Variationskoeffizienten zwischen 12 und 20 %. Es wird momentan diskutiert, dass es möglicherweise größere Unterschiede zwischen den Tests gibt. Da aber in vorliegender Studie ausschließlich Testplatten eines Herstellers und zudem aus demselben Lot verwendet wurden, spielt dies in dieser Studie keine Rolle.

Die Einteilung der Patienten in die gesunde Kontrollgruppe und die verschiedenen Stadien der dilatativen Kardiomyopathie erfolgte anhand der Befunde der kardiovaskulären Untersuchung, des 24-Stunden-EKGs und der echokardiographischer Parameter, hierbei insbesondere der Durchmesser und Volumina des linken Ventrikels in Systole und Diastole. Heute sind das 24-Stunden-EKG und die Echokardiographie die Methoden der Wahl, um das okkulte Stadium der Kardiomyopathie beim Dobermann zu diagnostizieren (CALVERT & BROWN, 1986; CALVERT et al., 2000a, 2000b; MEURS et al., 2001b; O'GRADY, 2002). In dieser Phase werden typischerweise über 100 bis hin zu mehreren Tausend ventrikuläre Extrasystolen (VES) gefunden. Im weiteren Verlauf der Krankheit kommen komplexe ventrikuläre Arrhythmien hinzu (CALVERT et al., 1997a, 2000a). Im Gegensatz dazu treten bei herzgesunden Patienten keine oder nur wenige Arrhythmien auf. 100 % einer Studienpopulation mit > 50 VES, 89 % mit

> 10 VES und 94 % mit Couplets oder Triplets in 24 Stunden entwickelten eine dilatative Kardiomyopathie (CALVERT et al., 1982, 2000b). Die Einteilung von gesund (< 50 VES in 24 Stunden) und krank (> 100 VES in 24 Stunden) erfolgte dabei in Anlehnung an weitere Studien, in denen mehr als 100 VES in 24 Stunden als prognostischer Marker für eine konsekutiv entwickelte dilatative Kardiomyopathie ermittelt wurden und bis zu 100 % der Hunde eine DCM entwickelten (CALVERT et al., 1997a, 2000a, 2000b; CALVERT & WALL, 2001a). MORRIS und Mitarbeiter (2009) teilten in ihrer Studie Hunde mit mehr als 50 VES bereits in die okkulte Gruppe ein. In vorliegender Studie hingegen wurden 50–100 VES als Graubereich und damit als Ausschlusskriterium definiert, um den Einfluss eventueller physiologischer Variationen und damit das Auftreten fehlerhaft zugeordneter Patienten zu minimieren.

Die Definition für ein pathologisch verändertes Echokardiogramm wurde an die Ergebnisse anderer Studien angelehnt. Bei verschiedenen Autoren wurden unterschiedliche Grenzwerte für die endsystolischen und enddiastolischen Durchmesser diskutiert. Das Limit für einen physiologischen linksventrikulären Durchmesser in der Diastole lag zwischen < 40,9 mm für Hündinnen und < 42,7 mm für Rüden bis < 50,0 mm für beide Geschlechter, für den systolischen Durchmesser zwischen < 33,1 mm für Hündinnen und < 34,7 mm für Rüden bis < 38,0 mm für beide Geschlechter. Als pathologisch verändert werden von verschiedenen Autoren enddiastolische Durchmesser ab > 45,0 mm bis > 49,0 mm und endsystolische Durchmesser von > 38,0 mm bis > 43,0 mm definiert. Zusätzlich wählten verschiedene Autoren innerhalb dieser Bereiche unterschiedliche Grenzwerte in Abhängigkeit von Geschlecht oder Gewicht (CALVERT et al., 1982, 1997a, 1997b, 2000a, 2000b; CALVERT & BROWN, 1986; O'GRADY, 1995b; 1995a; O'GRADY et al., 1997; CALVERT & JACOBS, 2000; CALVERT & WALL, 2001a, 2001b; O'SULLIVAN et al., 2005, 2007a; MORRIS et al., 2009). Auch andere Untersuchungen teilten Studienpopulationen vor allem anhand der endsystolischen und enddiastolischen Diameter ein (O'SULLIVAN et al., 2007a; 2007b).

Hunde ab einem endsystolischen linksventrikulären Durchmesser von > 38 mm oder einem enddiastolischen linksventrikulären Durchmesser von > 48 mm wurden als erkrankt eingestuft. Die Verkürzungsfraktion wurde aufgrund ihrer hohen Variabilität beim Dobermann nicht als Kriterium herangezogen. Da keine definitiven Werte zur Differenzierung vorliegen, könnten sowohl die

Stadieneinteilung als auch die Ergebnisse dadurch beeinflusst worden sein. Dies wurde versucht zu minimieren, indem zusätzlich die linksventrikulären Volumina zur Bewertung und Einteilung herangezogen wurden.

Die Beurteilung der linksventrikulären Volumina erfolgte in Anlehnung an SIMAK (2008), die erstmals Referenzwerte für die Volumenmessung beim Dobermann erstellte. Ein enddiastolisches Volumen von mehr als 100 ml pro m² Körperoberfläche oder ein endsystolisches Volumen von mehr als 55 ml pro m² Körperoberfläche wurden als pathologisch eingestuft. Die Patienten wurden einem der erkrankten Stadien zugeteilt, wenn mindestens ein pathologisch veränderter echokardiographischer Parameter vorlag oder im 24-Stunden-EKG mehr als 100 VES zu finden waren.

Die Gruppe „noch normal“ setzte sich aus Hunden zusammen, die zum Zeitpunkt der Untersuchung noch keine diagnostizierbaren Symptome aufwiesen, bei einer Folgeuntersuchung dann allerdings eine Kardiomyopathie festgestellt wurde. Die Einteilung in diese Gruppe erfolgte also retrospektiv. Die vorliegende Studie ist die erste Untersuchung, die sich eingehend mit Hunden in diesem präklinischen Stadium der Kardiomyopathie beim Dobermann beschäftigt. Dieses Stadium ist besonders unter dem Aspekt der Früherkennung, möglichst vor dem ersten Zuchteinsatz, interessant.

Die Hunde im okkulten Stadium der Erkrankung wurden zusätzlich noch in weitere Untergruppen aufgeteilt: Hunde mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen, Hunde mit ausschließlich echokardiographischen Veränderungen und Hunde mit beiden Veränderungen. Dies erfolgte, um Konzentrationsveränderungen von NTpro-BNP bezüglich der Eignung als Diagnostikum besser beurteilen und die pathophysiologischen Einflüsse auf die Freisetzung von NTpro-BNP evaluieren zu können. Auch MORRIS und Mitarbeiter (2009) nahmen diese Einteilung vor. Die okkulte Kardiomyopathie kann zum gegenwärtigen Zeitpunkt im Gegensatz zum kongestiven Herzversagen nur durch aufwändige und kostenintensive Untersuchungsmethoden diagnostiziert werden. Um die Eignung der NTpro-BNP-Messung als Frühdiagnostikum besser beurteilen zu können, wurde für einzelne Berechnungen die dekompenzierte Gruppe mit ihren zum Teil ausserhalb des Messbereichs liegenden hohen Konzentrationen ausgeschlossen und die herzgesunde Kontrollgruppe mit den okkulten Stadien und der okkulten Gesamtgruppe verglichen. Die okkulten Stadien mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen respektive echo-

kardiographischen Veränderungen wurden jeweils isoliert evaluiert, um die pathophysiologischen Mechanismen der erhöhten Freisetzung von NTpro-BNP beim Dobermann zu untersuchen.

Patienten im dekompensierten Stadium der Kardiomyopathie wurden in einer eigenen Gruppe zusammengefasst. Es ist bekannt, dass aufgrund der massiven Volumenüberladung im kongestiven Herzversagen die NTpro-BNP-Konzentration stark erhöht ist, da BNP vor allem bei myokardialer Dehnung freigesetzt wird; dies ist in der Humanmedizin und in mehreren veterinärmedizinischen Studien belegt und korreliert gut mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie (ASANO et al., 1999b; HAGGSTROM et al., 2000; MAISEL et al., 2002, 2004; MACDONALD et al., 2003; MUELLER et al., 2004; JANUZZI et al., 2005; DE FRANCESCO et al., 2007; PROSEK et al., 2007; WESS et al., 2007; BRAUNWALD, 2008; FINE et al., 2008; OYAMA et al., 2008a, 2008b; ACHEN et al., 2009).

Das Gewicht zeigte sowohl in der Gesamtpopulation als auch innerhalb und zwischen den einzelnen Stadien sowie beim Vergleich aller erkrankten Tiere mit der gesunden Kontrollgruppe eine homogene Verteilung ohne statistisch signifikante Unterschiede. Dies ist zum einen auf das Studiendesign zurückzuführen, da in vorliegende Studie nur Hunde einer Rasse untersucht wurden und diese erst ab einem Alter von 12 Monaten, also adulte Tiere, eingeschlossen wurden. Zum anderen wurden auch in einer anderen Studie beim Dobermann keine signifikanten Unterschiede in der Gewichtsverteilung zwischen gesunden und an Kardiomyopathie erkrankten Tieren gefunden (O'SULLIVAN et al., 2007a).

Bezüglich des Alters bestanden statistisch signifikante Unterschiede zwischen der gesunden Gruppe und allen anderen Stadien, ebenso beim Vergleich der herzgesunden Hunde mit der kranken Gesamtgruppe. Der Altersbereich von 1 – 13 Jahren sowie das mittlere Alter von 6,9 Jahren der erkrankten Gesamtpopulation korrelieren gut mit anderen Studien, in denen ähnliche Altersangaben beschrieben wurden (CALVERT et al., 1982, 1997a; CALVERT & BROWN, 1986, 2004). Abgesehen davon, dass die Kardiomyopathie beim Dobermann in der Regel erst in einem Alter von fünf bis zehn Jahren auftritt, d. h. symptomatisch und damit diagnostizierbar wird, und die Schwere der Erkrankung mit der Zeit zunimmt (CALVERT et al., 1982, 1997a, 1997b, 2000b; CALVERT & BROWN, 1986, 2004; O'GRADY & HORNE, 1998; O'GRADY &

O'SULLIVAN, 2004; O'SULLIVAN et al., 2005; OYAMA et al., 2007), kam das niedrige Durchschnittsalter in der gesunden Gruppe unter anderem dadurch zustande, dass im Rahmen von Zuchttauglichkeitsuntersuchungen überdurchschnittlich viele junge Hunde in der Klinik vorgestellt wurden.

Die Geschlechtsverteilung präsentierte sich außer in der noch normalen Gruppe, in der 44,4 % der Tiere Hündinnen und 55,6 % Rüden waren, relativ inhomogen. In der gesunden Gruppe waren 64,3 % der Tiere weiblich und 37,7 % männlich. Dies könnte auf die größere Anzahl an Hündinnen, die zur Zucht eingesetzt werden sollen und deshalb in unserer Abteilung vorgestellt wurden, zurückzuführen sein. In der Gruppe mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen waren 60,0 % der Hunde weiblich und 40,0 % männlich. In den beiden anderen okkulten Stadien und in der dekompensierten Gruppe waren mehr Rüden als Hündinnen vertreten. Die prozentuale Verteilung von weiblichen und männlichen Tieren, die ausschließlich echokardiographische Veränderungen aufwiesen, lag bei 30,0 % und 70,0 %, in der Gruppe mit ventrikulären Extrasystolen und echokardiographischen Veränderungen bei 31,6 % und 68,4 % und im dekompensierten Stadium bei 18,2 % und 81,8 %. In der von der Kardiomyopathie betroffenen Gesamtgruppe waren ebenfalls mehr Rüden (57,8 %) als Hündinnen (42,2 %) vertreten. Ein größerer Anteil erkrankter Rüden stimmt generell mit den Ergebnissen anderer Studien überein (CALVERT et al., 1982, 1997, 1998, 2000a; CALVERT & BROWN, 1986; JACOBS & CALVERT, 1995; O'GRADY & HORNE, 1998). In zwei Studien hingegen lag eine homogene Geschlechtsverteilung vor (CALVERT et al., 2000b; MEURS et al., 2007). Die vorliegenden Ergebnisse lassen darauf schließen, dass Rüden zu einem früheren Zeitpunkt der Erkrankung bereits echokardiographische Veränderungen entwickeln und es zu einer schnelleren Progression der Kardiomyopathie kommt, die Hündinnen hingegen über einen längeren Zeitraum hinweg ausschließlich ventrikuläre Extrasystolen zeigen. In anderen Studien wurde eine Überrepräsentation von Rüden festgestellt. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Kardiomyopathie bei den Rüden aufgrund der einfacher zu diagnostizierenden echokardiographische Veränderungen leichter zu festzustellen ist. Im Gegensatz dazu kann bei Hündinnen die Kardiomyopathie im Stadium mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen nur mittels 24-Stunden-EKG (Holter) diagnostiziert werden.

Zwischen dem Alter der männlichen und weiblichen Tiere der jeweiligen Gruppen bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede. Jedoch zeigte sich generell ein Trend zu älteren weiblichen Tieren. In der noch gesunden Gruppe waren die Hündinnen im Mittel 7,1 Jahre alt (Median 7 Jahre), die Rüden waren in dieser Gruppe durchschnittlich 4,9 Jahre alt (Median 5 Jahre). In der Gruppe mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen waren die Hündinnen durchschnittlich 6,3 Jahre alt (Median 7 Jahre), die Rüden im Mittel 5,7 Jahre (Median 5 Jahre). In der Gruppe mit ausschließlich echokardiographischen Veränderungen waren die Hündinnen erst im Alter ab 5 Jahren (Mean 8,1 Jahre, Median 8 Jahre) vertreten, die Rüden bereits ab 2 Jahren (Mean 5,3 Jahre, Median 4 Jahre). Der gleiche Trend zeigte sich in der Gruppe mit ventrikulären Extrasystolen und echokardiographischen Veränderungen ($p = 0,0500$), hier waren die weiblichen Tiere 7 Jahre und älter (Mean 8,5 Jahre, Median 8 Jahre), der jüngste Rüde 2,5 Jahre (Mean 6,9 Jahre, Median 7 Jahre). Im Gegensatz zu einer Studie von CALVERT und Mitarbeitern (1997b), in der die männlichen Tiere im kongestiven Herzversagen jünger waren als die weiblichen, betrug das Alter sowohl der Rüden als auch der zwei Hündinnen in vorliegender Studie im dekompenzierten Stadium durchschnittlich 7,6 Jahre. Betrachtete man das Alter der Patienten in der erkrankten Gesamtgruppe, so gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Geschlechtern (Mean Hündinnen: 7,0 Jahre, Rüden: 6,2 Jahre).

Weder Alter noch Gewicht oder Geschlecht hatten einen statistisch signifikanten Einfluss auf die NTpro-BNP-Konzentration. Auch wenn beim Dobermann die Rüden in der Regel größer und schwerer als die Hündinnen sind, so hatte dies keinen Einfluss auf die NTpro-BNP-Werte (Mittelwerte der Kontrollgruppe: Hündinnen 317,86 pmol/l, Rüden 310,99 pmol/l). In anderen veterinärmedizinischen Studien konnte ebenfalls kein Zusammenhang mit dem Geschlecht oder der Konzentration an Sexualhormonen gefunden werden (BOSWOOD et al., 2008; LEACH et al., 2008; TARNOW et al., 2009). Allerdings werden der Einfluss von Alter und Gewicht in der Tiermedizin noch kontrovers diskutiert (BOSWOOD et al., 2008; OYAMA et al., 2008a; FOX et al., 2009; LALOR et al., 2009; TARNOW et al., 2009). Ein Gewichtseinfluss war nicht zu erwarten, da in vorliegender Studie eine einzige Hunderasse untersucht wurde. Es wurde auch kein Alterseinfluss entdeckt, obwohl die vorliegende Studie die bisher größte Studie zu diesem Thema ist.

In der Humanmedizin stellten MCLEAN und Mitarbeiter (2003) in ihrer prospektiven angelegten Studie einen 2- bis 3-fach erhöhten BNP-Spiegel bei älteren Menschen fest. Auch das Geschlecht war relevant, Frauen hatten einen 2- bis 3-fach höheren BNP-Spiegel als Männern (MCLEAN et al., 2003a). Trotz unterschiedlicher Referenzwerte für verschiedenen Altersgruppen reflektiert NTpro-BNP den Schweregrad des kongestiven Herzversagens bei älteren und jüngeren Patienten jedoch in gleichem Maß (MAISEL et al., 2008; FRANKENSTEIN et al., 2009). Auch das Gewicht hat beim Menschen einen signifikanten Einfluss auf die BNP-Konzentration. Ein erhöhter Body Mass Index (BMI) korreliert negativ mit den (NTpro-)BNP-Spiegeln (MEHRA et al., 2004; WANG et al., 2004b; DAS et al., 2005; KRAUSER et al., 2005; DANIELS et al., 2006; HORWICH et al., 2006; TAYLOR et al., 2006). Der pathophysiologische Mechanismus ist noch nicht eindeutig geklärt. Die vermehrte Expression von NPR-C, der den Abbau von BNP vermittelt, im Fettgewebe könnte eine Ursache dafür sein. Für NTpro-BNP allerdings ergab eine Analyse der „ICON“ Studie, dass die Ausschlusswerte für ein kongestives Herzversagen unabhängig vom BMI gleich zu verwenden sind (BAYES-GENIS et al., 2007). Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass aufgrund der unterschiedlichen Elimination von BNP und NTpro-BNP letzteres bei adipösen Personen die bessere Aussagekraft hat. Es stellt sich die Frage, warum trotz hoher genetischer, biochemischer und funktioneller Homologie von BNP innerhalb der Mammalia keine Übereinstimmung bezüglich der physiologischen Einflussgrößen zu finden ist. Die in Relation zu den hohen Patientenzahlen, auf denen humanmedizinische Studien basieren, kleinen Studienpopulationen in der Veterinärmedizin könnten eine Erklärung dafür sein. Ob und inwieweit die physiologischen Einflussgrößen Alter, Geschlecht und Gewicht auf die Konzentration der natriuretischen Peptide in der Veterinärmedizin eine Rolle spielen, wird in weiteren Studien mit noch höheren Patientenzahl zu klären sein.

Ein neu entwickelter Test kann keine besseren Ergebnisse liefern als der etablierte Goldstandard. Für den Fall, dass ein neues Diagnostikum bereits vor dem etablierten Test, der ja zur Einteilung der Patienten in gesund respektive erkrankt herangezogen wird, positiv reagiert, wird er folglich als falsch positiv eingestuft. Dies ist auch in vorliegender Studie möglich, da nicht alle Hunde der gesunden Kontrollgruppe bis an ihr Lebensende verfolgt werden konnten. Aufgründdessen

könnten in der gesunden Kontrollgruppe genetisch determiniert kranke Hunde eingeschlossen worden sein, die allerdings noch nicht als solche erkannt wurden. Zusätzlich wurden Hunde im „noch normalen“ Stadium untersucht. In diese Gruppe wurden diejenigen Untersuchungen aufgenommen, die zu diesem Zeitpunkt mit den verfügbaren diagnostischen Methoden als gesund bewertet wurden. Im Rahmen von Folgeuntersuchungen entwickelten diese Tiere allerdings Symptome im Sinne einer Kardiomyopathie, die Einteilung in die „noch normale“ Gruppe erfolgte also retrospektiv. Dadurch wurde erstmalig in der Veterinärmedizin versucht zu evaluieren, ob (NTpro-)BNP besser zur Früherkennung der Kardiomyopathie beim Dobermann geeignet sein könnte als konventionelle Untersuchungsmethoden. Obwohl aufgrund der geringen Anzahl an Patienten in dieser Gruppe keine statistische Signifikanz erreicht werden konnte, war ein Trend zu höheren NTpro-BNP-Konzentrationen zu verzeichnen; der Mittelwert lag mit 499,7 pmol/l über dem Mittelwert der Gruppe mit ventrikulären Extrasystolen (469,9 pmol/l). Weitere Untersuchungen müssen dieses Ergebnis validieren.

Das Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung von NTpro-BNP beim gesunden Dobermann sowie in den verschiedenen Stadien der rassespezifischen Kardiomyopathie. Der Mittelwert der gesunden Gruppe lag bei 315,7 pmol/l (Standardabweichung 147,8 pmol/l; 95 %-Konfidenzintervall 299,1 – 331,3 pmol/l, Minimalwert 22,1 pmol/ml und Maximalwert 883,7 pmol/l).

Statistisch gesehen liegen etwa 2/3 aller Werte im Bereich zwischen Mittelwert – Standardabweichung und Mittelwert + Standardabweichung. Als Referenzwert (= Mittelwert \pm 2 x Standardabweichung) wurde 315,7 pmol/l \pm 295,6 pmol/l errechnet. Zwischen den Grenzen 20,1 pmol/l und 611,3 pmol/l liegen etwa 95 % aller Werte der herzgesunden Hunde. Damit liegt der ermittelte Referenzbereich nicht nur deutlich über dem vom Hersteller angegebenen Mittelwert der gesunden Gruppe seiner Testvalidierung von 93 pmol/l, sondern auch über dem empfohlenen Cut-off-Wert von 210 pmol/l zum Ausschluss kardialer Erkrankungen. Nach Herstellerangaben betragen die mittleren Serumkonzentrationen der in der Testvalidierung untersuchten Hunde verschiedener Rassen in den Gruppen gesund, respiratorische Krankheiten, kardiale Erkrankungen und Herzversagen jeweils 93 pmol/l (Minimum 18 pmol/l und Maximum 173 pmol/l), 117 pmol/l, 894 pmol/l und 2254 pmol/l.

Interessanterweise finden sich allerdings in allen neuen Studien höhere Mittelwerte für gesunde Hunde als vom Hersteller postuliert. MORRIS und Mitarbeiter (2009) maßen in ihrer gesunden Dobermann-Gruppe einen Mittelwert von 220 pmol/l (IQR 171 – 315 pmol/l). In der Studie von WESS und Mitarbeitern (2007) betragen die Mittelwerte der gesunden Hunde verschiedener Rassen und denjenigen mit ausschließlich respiratorischen Erkrankungen 246 pmol/l respektive 239 pmol/l, die Gruppe mit kardialen Befunden hatte eine mittlere NTpro-BNP-Konzentration von 1859 pmol/l. Auch in anderen Studien, die den VETSIGN™ Canine CardioSCREEN Nt-proBNP Test von Guildhay Ltd. verwendeten, lagen die Mittelwerte der gesunden Hunde deutlich höher: 324 pmol/l (HORI et al., 2008a), 278 pmol/l mit einem Minimum von 68 pmol/l und einem Maximum von 515 pmol/l (CHETBOUL et al., 2009), 330 pmol/l mit einem Minimalwert von 224 pmol/l und einem Maximalwert von 600 pmol/l (TARNOW et al., 2009); bei allen Untersuchungen handelt es sich bezüglich der Rasse um heterogene Gruppen.

Aufgrund dieser Tatsache erscheint eine Rasseprädisposition beim Dobermann als Ursache der erhöhte Werte unwahrscheinlich. Zudem liegt bis dato keine Veröffentlichung zur Korrelation von Rasse und NTpro-BNP-Konzentration vor. Nicht bei allen Hunden der gesunden Gruppe lag ein Langzeit-Follow up vor. Daher könnte der höhere Referenzwert und der hohe Maximalwert darauf zurückzuführen sein, dass sich in der gesunden Gruppe eventuell genetisch determinierte kranke Hunde befinden, die mit den derzeit zur Verfügung stehenden Methoden noch nicht als solche erkannt werden konnten. Weitere Untersuchungen zu eventuellen physiologischen Schwankungen von NTpro-BNP beim Dobermann wären sinnvoll, da KELLIHAN und Mitarbeiter (2009) eine hohe Variabilität der NTpro-BNP-Spiegel bei wöchentlichen Messungen beschrieben.

Die Differenz zwischen den Ergebnissen von BOSWOOD und Mitarbeitern (2008) bezüglich des Referenzwerts für gesunde Hunde und unseren Ergebnissen sowie denen der anderen Autoren ließe sich auch mit der Tatsache erklären, dass in vorliegender Studie die Blutentnahme direkt in gekühlte Probenröhrchen erfolgte, die Proben umgehend bei 4 °C zentrifugiert und danach sofort bei -70 °C tiefgekühlt wurden, ebenso wie oben genannte Autoren; BOSWOOD dagegen machte dazu in seiner Veröffentlichung keine Angaben. Da FARACE und Mitarbeiter (2008) mittlerweile zeigen konnten, dass durch Kühlung der durch

Proteasen bedingte Abbau von NTpro-BNP verhindert werden kann, ist anzunehmen, dass eine unzureichende Kühlung bei der Probengewinnung und -verarbeitung falsch niedrige Messergebnissen bedingt.

Der VETSIGNTM Canine CardioSCREEN Nt-proBNP Test wurde kürzlich von IDEXX Laboratories, Vet Med Labor GmbH Ludwigsburg, Deutschland, übernommen. Die derzeit empfohlenen Cut-off-Werte des Labors betragen:

„< 500 pmol/l: die NT-proBNP-Konzentration ist nicht signifikant erhöht. Das Vorliegen einer klinisch signifikanten Herzerkrankung und/oder Herzinsuffizienz ist unwahrscheinlich.

500 – 1100 pmol/l: die NT-proBNP-Konzentration ist erhöht. Eine Herzerkrankung und/oder kongestive Herzinsuffizienz kann vorliegen. Bei deutlichen klinischen Symptomen werden weiterführende kardiologische Untersuchungen empfohlen.

1100 – 1725 pmol/l: die NT-proBNP-Konzentration ist erhöht und spricht für das Vorliegen einer Herzerkrankung und/oder kongestiven Herzinsuffizienz. Eine komplette kardiologische Untersuchung des Patienten wird empfohlen.

>1725 pmol/l: die NT-proBNP-Konzentration ist signifikant erhöht. Das Vorliegen einer kongestiven Herzinsuffizienz ist sehr wahrscheinlich. Eine komplette kardiologische Untersuchung des Patienten wird empfohlen.“
(persönliche Kommunikation mit Dr. Bernd Freude, VetMedLabor GmbH, Division of IDEXX Laboratories, Ludwigsburg, Deutschland, am 22.10.1009).

Diese Werte sind an die Ergebnisse anderer Studien angelehnt (siehe Tabellen 5 und 6, S. 39 und 41) (WESS et al., 2007; OYAMA et al., 2008a, 2008b; CHETBOUL et al., 2009; FARACE et al., 2009b; SAUNDERS et al., 2009; TARNOW et al., 2009). Sie haben daher eine wesentlich höhere Aussagekraft als die vom vorherigen Hersteller empfohlenen Cut-off-Werte. In der vorliegenden Untersuchung wurden in der gesunden und der dekompensierten Gruppe ähnliche Werte ermittelt.

Ebenso zeigte sich, dass die mittlere NTpro-BNP-Konzentration mit zunehmendem Schweregrad der Kardiomyopathie anstieg. Dies wurde auch bei Untersuchungen anderer kardialer Erkrankungen wie der Mitralklappenendokardiose festgestellt (OYAMA et al., 2008a; CHETBOUL et al., 2009; PIANTEDOSI et al., 2009; TARNOW et al., 2009). Unter der Voraussetzung, dass das Fortschreiten einer kardialen Erkrankung mit einer Volumenüberladung des Herzens einhergeht, ist dies aufgrund der bisher bekannten

pathophysiologischen Mechanismen vorhersehbar, da die BNP-Ausschüttung hauptsächlich durch myokardiale Dehnung induziert wird. Interessant ist jedoch die Tatsache, dass bereits bei den Hunden mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen, also ohne nachweisbare Volumenüberladung und myokardiale Dehnung, eine statistisch signifikante Erhöhung von NTpro-BNP gegenüber der gesunden Kontrollgruppe zu verzeichnen war. Bisher konnte in keiner veterinärmedizinischen Studie ein Zusammenhang zwischen kardialen Tachyarrhythmien und einer Erhöhung von (NTpro-)BNP nachgewiesen werden.

In der Humanmedizin sind Erhöhungen von NTpro-BNP bei myokardialer Asynchronität, Syndrom X mit Linksschenkelblock (Left bundle branch block = LBBB) sowie Vorhofflimmern, jeweils mit erhaltener systolischer Funktion, beschrieben (DUDEK et al., 2001; CIURASZKIEWICZ et al., 2009a; LETSAS et al., 2009). NTpro-BNP war in einer Studie der elektrophysiologischen Untersuchung zur Vorhersage des Outcomes bei Patienten mit implantiertem Defibrillator nach Myokardinfarkt sogar überlegen (YU et al., 2007) und konnte nicht nur die durch kardiale Dysfunktion, wie kongestives Herzversagen, bedingte Mortalität vorraussagen, sondern auch die durch Arrhythmien bedingte Mortalität (GALANTE et al., 2008). Mit einer Sensitivität und Spezifität von 73 % und 88 % (PPV 80 %, NPV 88 %) ließ sich auf das Auftreten von anhaltenden ventrikulären Tachykardien nach Defibrillator-Implantation schließen und dadurch die Patienten mit einem höheren Risiko für einen plötzlichen Herztod evaluieren (MANIOS et al., 2005). Außerdem variiert die BNP-Konzentration signifikant mit unterschiedlichen Arten von Schrittmachern: ein physiologisches Pacing (AAI) hatte signifikant niedrigere Werte zur Folge als unphysiologisches Pacing (VVI) (WANG et al., 2005; WANG et al., 2009). Patienten, die auf eine kardiale Resynchronisationstherapie nicht ansprachen, hatten signifikant höhere BNP Werte als „Responders“ (WANG et al., 2009). Erhöhte BNP-Spiegel wiesen auf das Auftreten von Arrhythmien auch bei nicht-ischämischer, also dilatativer, Kardiomyopathie hin (SIMON et al., 2008) sowie bei Patienten im Herzversagen mit erhaltener linksventrikulärer Ejektionsfraktion (GREWAL et al., 2008). Patienten mit kardial bedingten Synkopen haben signifikant höhere NTpro-BNP-Spiegel als diejenigen mit nicht kardialen Synkopen (PFISTER et al., 2009). Diese Studien verdeutlichen, dass es bei Arrhythmien unabhängig von einer vorhandenen myokardialen Dehnung zu einem Anstieg von (NTpro-)BNP kommt.

In der Humanmedizin ist als Ursache für eine dilatative Kardiomyopathie unter anderem myokardiale Fibrose beschrieben (GALVIN & RUSKIN, 2004). Bei Patienten mit ventrikulären Tachyarrhythmien bei echokardiographisch strukturell normal erscheinendem Herzen wurden magnetresonanztomographisch nachweisbare fokale abnormale systolische Wandbewegungen und histologisch fokale fettige Infiltrationen beschrieben (LERMANN et al., 2004). Beim Dobermann wurde in histologischen Untersuchungen von Herzen der an Kardiomyopathie erkrankten Hunde in der linksventrikulären freien Wand Degeneration und Atrophie von Myofibrillen und Infiltration des Myokardiums mit Kollagen und Clustern von Adipozyten nachgewiesen, allerdings keine inflammatorischen Zellen (EVERETT et al., 1999). BNP wurde in humanen und kaninen Fibroblasten gefunden und es wird postuliert, dass BNP-Konzentrationen auch inflammatorische und Remodelling-Prozesse reflektieren (JARAI et al., 2009b). Zudem hat BNP einen direkten Effekt auf kardiale Fibroblasten und inhibiert unter anderem die TGF-beta-induzierte Kollagen-1-Expression (KAPOUN et al., 2004). Eine mögliche Hypothese zu der erhöhten Konzentration von NTpro-BNP beim Dobermann im okkulten Stadium mit ventrikulären Extrasystolen aber ohne echokardiographischen Veränderungen könnte der bereits stattfindende strukturellen Umbau des Myokards sein, der nicht nur die VES bedingt, sondern auch die gegenregulatorische Produktion von BNP auslöst. Durch den Umbau könnte lokal eine Ischämie im Myokard ausgelöst werden, die wiederum sowohl Arrhythmien als auch eine Ausschüttung von BNP bedingen könnte. Hierzu liegen noch keine Erkenntnisse bezüglich der Kardiomyopathie beim Dobermann vor.

In den okkulten Gruppen mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen, ausschließlich echokardiographischen Veränderungen und ventrikulären Extrasystolen plus echokardiographische Veränderungen betragen Mittelwert und Median jeweils 469,9 und 541 pmol/l, 946,0 und 704 pmol/l sowie 809,5 und 811 pmol/l. Die Maximal- und Minimalwerte sowie Standardabweichungen sind der Tabelle 14, S. 67, zu entnehmen. Die mittlere NTpro-BNP-Konzentration der 140 untersuchten Hunde der gesamten okkulten Gruppe betrug 636,0 pmol/l. MORRIS und Mitarbeiter (2009) evaluierten in ihrer Studie zur Kardiomyopathie beim Dobermann in der okkulten Gruppe (67 Hunde) einen Mittelwert von 552 pmol/l. Ähnliche Werte wurden in anderen Untersuchungen über Hunde mit

präklinischer Mitralklappenendokardiose gefunden (DROURR et al., 2008; OYAMA et al., 2008a; CHETBOUL et al., 2009).

Die dekompensierte Gruppe erreichte eine mittlere NTpro-BNP-Konzentration von 2632,6 pmol/l (siehe Maximal- und Minimalwerte sowie Standardabweichungen Tabelle 9, S. 67). Dieser Wert korreliert mit den Ergebnissen anderen Studien über Hunde mit kongestivem Herzversagen (FINE et al., 2008; OYAMA et al., 2008b).

Besondere Beachtung ist auch der „noch normalen Gruppe“ zu schenken, also denjenigen Hunden, die zum Zeitpunkt dieser Untersuchung noch als gesund eingestuft wurden, im Verlauf von Kontrolluntersuchungen aber eine diagnostizierbare Kardiomyopathie entwickelten. Der Mittelwert dieser Gruppe lag mit 499,7 pmol/l (Median 541 pmol/l) sogar über dem der Gruppe im okkulten Stadium mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen, der Unterschied erreichte aber im Mehrfachvergleich nach Bonferroni keine statistische Signifikanz gegenüber der gesunden Gruppe. Dies könnte an der geringen Anzahl von 17 Untersuchungen liegen, die in die noch normale Gruppe eingeschlossen wurden. Wie bereits oben erläutert, könnte dieser Anstieg von NTpro-BNP durch die strukturellen Veränderungen auf zellulärer Ebene im Myokard bedingt sein, die bereits zu einer erhöhten Freisetzung von BNP und äquimolaren Mengen von NTpro-BNP führen (KAPOUN et al., 2004; JARAI et al., 2009b). Aufgrund dessen wird die Theorie der fokalen Ischämie allerdings eher unwahrscheinlich, denn es stellt sich die Frage, ob eine fokale Ischämie bereits eine BNP-Sekretion induzieren kann, ohne auch funktionelle und damit elektrophysiologische oder echokardiographische Veränderungen hervorzurufen. Die Möglichkeit, mit NTpro-BNP einen Biomarker gefunden zu haben, der myozytäre Veränderungen widerspiegelt, die sich im weiteren Verlauf zu einer manifesten Kardiomyopathie entwickeln, wäre ein fundamentaler Schritt hin zur Frühdiagnostik der Kardiomyopathie beim Dobermann. Es wird die Aufgabe einer Langzeitstudie zu diesem Thema sein, zu klären, ob der hohe Mittelwert in dieser Gruppe bei einer höheren Anzahl an Untersuchungen bestehen bleibt und ob sich sogar ein statistisch signifikanter Unterschied zur gesunden Gruppe erreichen lässt.

Bei dem in vorliegender Untersuchung ermittelten optimalen Cut-off von 413,8 pmol/l ließen sich die an Kardiomyopathie erkrankten Hunde mit einer Sensitivität von 72,4 % und einer Spezifität von 80,2 % von den gesunden

unterscheiden. Die AUC betrug 0,820. Der positive prädiktive Wert (PPV) lag bei 55,4 %, der negative prädiktive Wert (NPV) bei 89,9 %.

Sensitivität und Spezifität sind die Gütekriterien eines diagnostischen Tests, also die Wahrscheinlichkeiten, dass die Patienten richtig klassifiziert werden. Das bedeutet in vorliegendem Fall, dass 72,4 % der an Kardiomyopathie erkrankten Hunde und 82,0 % der gesunden Hunde richtig klassifiziert werden. 27,6 % der erkrankten Hunde werden demnach fälschlicherweise nicht als solche erkannt. Allerdings sind für den behandelnden Arzt, wie auch die betroffenen Patienten, nicht so sehr die Gütekriterien als vielmehr die prädiktiven Werte interessant. Diese Werte geben an, mit welcher Wahrscheinlichkeit das Testergebnis den richtigen Krankheitsstatus anzeigt. Während die Prävalenz die Wahrscheinlichkeit bezeichnet, erkrankt zu sein bevor das Testergebnis vorliegt („a-priori-Wahrscheinlichkeit“), ist der positive prädiktive Wert die Wahrscheinlichkeit, erkrankt zu sein, nachdem das positive Testergebnis vorliegt („a-posteriori-Wahrscheinlichkeit“). Ein geringer positiver prädiktiver Wert und ein hoher negativer prädiktiver Wert sind keine Besonderheit, sondern eher typisch für diagnostische Tests. Ein positiver Testbefund kann sich auch bei gesunden Probanden aufgrund von Einflüssen, die in keinem Zusammenhang mit der relevanten Krankheit stehen, ergeben. Die negativen Befunde sind dagegen fast ausschließlich gesunden Hunden zuzuordnen, lediglich ein geringer Anteil ist falsch negativ. In Spezialkliniken ist die Prävalenz und damit auch die Aussagekraft diagnostischer Tests in der Regel höher; dies gilt damit auch für vorliegende Untersuchung, die an einer Überweisungsklinik mit hoher Spezialisierung durchgeführt wurde. Ein positiver Befund ist in der Regel schwieriger zu bewerten, vor allem in niedrigen Konzentrationsbereichen nahe dem Referenzwert. Da bei einem negativen Ergebnis die Krankheit mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden kann, liegt hier eine mögliche Verwendung für die Bestimmung von NTpro-BNP. Praktische Tierärzte, die keine Möglichkeit einer weiterführenden kardiologischen Diagnostik besitzen, könnten durch einen erhöhten NTpro-BNP Wert die Notwendigkeit einer Überweisung zum Spezialisten erkennen. Dass dadurch gelegentlich gesunde Hunde mit einem falsch positiven Ergebnis einer weiterführenden Untersuchung unterzogen würden, erscheint aufgrund des Risikos der Kardiomyopathie beim Dobermann und ihrer fatalen Folgen durchaus akzeptabel.

Die Differenzierung der Hunde mit echokardiographischen Veränderungen von der gesunden Kontrollgruppe erreichte bei einem Cut-off von 413,8 pmol/l eine Sensitivität von 90,0 % und eine Spezifität von 80,2 %, die AUC erhöhte sich auf 0,918. Der PPV betrug 60,4 % und der NPV stieg auf 96,0 %. Unter Ausschluss der dekompenzierten Hunde mit ihren zum Teil außerhalb des Messbereichs liegenden hohen NTpro-BNP Konzentrationen betrug die AUC 0,900, die Sensitivität lag immer noch bei 87,7 % bei gleicher Spezifität; der PPV von 59,9 % und der NPV von 95,1 % waren nur unwesentlich niedriger. Somit könnte die Messung von NTpro-BNP eventuell die echokardiographische Untersuchung ersetzen, zumindest dann, wenn kein Echokardiogramm zur Verfügung steht.

Betrachtet man nun nur die Patienten der okkulten Stadien, also ohne die bereits dekompenzierten Hunde, um die Ergebnisse mit denen von MORRIS und Mitarbeitern (2009) vergleichen zu können, so findet sich zur Unterscheidung gesund vs. echokardiographische Veränderungen \pm VES im okkulten Stadium bei einem Cut-off von 413,8 pmol/l eine AUC von 0,900, eine Sensitivität von 87,7 % und eine Spezifität von 80,2 %, einen PPV von 54,4 % und einen NPV von 88,9 % . Im Vergleich dazu ermittelten MORRIS und Mitarbeiter (2009) für ihren Cut-off von 478 pmol/l eine AUC von 0,916, eine Sensitivität von 88,2 % und eine Spezifität von 91,4 %.

Zur Differenzierung von Hunden mit ausschließlich VES wurde in vorliegender Studie eine AUC von 0,712 ermittelt, bei MORRIS und Mitarbeitern (2009) eine AUC von 0,697. Die in der vorliegenden Untersuchung ermittelte Sensitivität und Spezifität 54,7 % und 80,2 % (PPV 48,1 %, NPV 84,1 %) für den Cut-off von 413,8 pmol/l sowie 64,1 % und 73,9 % für den optimalen Cut-off von 371,6 pmol/l (PPV 45,2 %, NPV 86,0 %) erscheinen zu niedrig, um das 24-Stunden-EKG als Diagnostikum ersetzen zu können.

Abgesehen von den unterschiedlichen Cut-off-Werten ist festzustellen, dass die Ergebnisse beider Studien gut miteinander korrelieren, auch wenn MORRIS und Mitarbeiter (2009) mit 67 gesunden und 33 okkult erkrankten Hunden eine wesentlich kleinere Patientenpopulation untersuchten als Hunde in vorliegende Arbeit eingeschlossen wurden (227 gesunde und 121 okkult erkrankte Hunde).

Vom Hersteller des verwendeten ELISA wurden während des Untersuchungszeitraums folgende Interpretationsempfehlungen gemacht: < 210 pmol/l = negativ, d. h. keine Herzerkrankung oder Herversagen (Sensitivität 85 %, Spezifität 90 %); ≥ 210 pmol/ und < 300 pmol/l = hoch normal, d. h. mögliche Herzerkrankung

(PPV > 86 %); ≥ 300 pmol/l = Herzerkrankung oder -versagen (PPV > 99 %, Sensitivität 45 %, Spezifität 100 %). Zur Unterscheidung herzgesunder Hunde von Hunden mit Herzerkrankungen oder Herzversagen ergab sich eine AUC von 0,952; bei dem vom Hersteller empfohlenen Cut-off von 210 pmol/l lagen Sensitivität und Spezifität bei 85,0 % und 90,0 %, der PPV bei 94,0 %, der NPV 77,0 % mit einer Genauigkeit von 87,0 %. Mittlerweile wurden die Cut-off-Werte vom neuen Hersteller nach oben korrigiert (siehe S. 100).

Diese Ergebnisse wurden aus der von BOSWOOD und Mitarbeitern (2008) veröffentlichten Studie übernommen, deren Untersuchungen die Grundlage der von Guildhay Ltd. veröffentlichten Validation bildeten. Allerdings betrug hier beim Cut-off von 210 pmol/l die AUC 0,888, Sensitivität und Spezifität lagen bei 80,0 % und 82,4 % (BOSWOOD et al., 2008). TARNOW und Mitarbeiter (2009) ermittelten zwar einen ähnlich niedrigen Cut-off (299 pmol/l) zur Identifizierung von Hunden mit schwerer Mitralklappenendokardiose, erreichten aber dafür bei einer AUC von 0,920 und einer Sensitivität von 100 % nur eine Spezifität von 43,0 %. Diese Cut-off-Werte erscheinen, verglichen mit den Ergebnissen in vorliegender Studie, zu niedrig angesetzt. Wie bereits beschrieben, ergaben sich auch in der Studie von WESS und Mitarbeitern (2007), in der wie bei Guildhay Ltd. und BOSWOOD und Mitarbeitern (2008) Hunde mit Dyspnoe untersucht wurden, höhere Mittelwerte für die herzgesunde Kontrollgruppe wie auch für die anderen Gruppen; dementsprechend wurde in dieser Untersuchung der optimale Cut-off mit 520 pmol/l (Sensitivität 94,7 %, Spezifität 96,2 %) angegeben (WESS et al., 2007). Auch andere Autoren ermittelten höhere Cut-off-Werte zur Identifizierung von kardialen Erkrankungen, kardial bedingter Dyspnoe, Mitralklappenendokardiose oder kongenitalen Erkrankungen (WESS et al., 2007; OYAMA et al., 2008a, 2008b; CHETBOUL et al., 2009; FARACE et al., 2009b; SAUNDERS et al., 2009; TARNOW et al., 2009).

Die echokardiographischen Parameter enddiastolische und endsystolische Durchmesser, gemessen in der rechtsparasternalen Längsachse, enddiastolische und endsystolische Volumina, jeweils gemessen in der rechtsparasternalen Längsachse und im linksapikalen Vierkammerblick sowie die errechneten biplanen Werte, und der Durchmesser des linken Atriums sowie das Verhältnis der Durchmesser des linken Atriums und der Aorta (LA/Ao) korrelierte statistisch signifikant positiv mit der NTpro-BNP-Konzentration. Die Verkürzungs- (FS) und Ejektionsfraktionen (EF) korrelierten statistisch signifikant negativ mit der

NTpro-BNP-Konzentration; das bedeutet, dass niedrigere FS- und EF-Werte zu höheren NTpro-BNP-Konzentrationen führten. Dies ist durch die abnehmende systolische Funktion zu erklären und somit in Übereinstimmung mit den anderen echokardiographischen Parametern zu sehen. Der Zusammenhang mit den linksventrikulären Volumina ist am stärksten ausgeprägt, die Korrelationskoeffizienten liegen sowohl für die in der rechtsparasternalen Längsachse und im linksapikalen Vierkammerblick ermittelten sowie die errechneten biplanen Werte über 0,7. Auch der Determinationskoeffizient r^2 , das Verhältnis von erklärter Varianz zur Gesamtvarianz als Maß für die Güte der Schätzung, ist für die Volumina jeweils $> 0,5$. Das bedeutet, dass > 50 % der Varianz der Volumina durch die NTpro-BNP-Konzentration erklärbar sind. Für die endsystolischen Volumina in der rechtsparasternalen Längsachse und im linksapikalen Vierkammerblick sind dies 57,6 % und 54,5 %, in der biplanen Berechnung 58,4 %, für die enddiastolischen Volumina 53,1 %, 50,0 % und 53,9 % (siehe Tab. 16, S. 89).

Bezüglich LA/Ao und der Verkürzungsfraktion stimmen vorliegende Ergebnisse mit denen anderer Autoren überein (CONNOLLY et al., 2008a; DROURR et al., 2008; OYAMA et al., 2008a; CHETBOUL et al., 2009; TARNOW et al., 2009). Im Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegende Arbeit konnten zwei andere Autoren keinen Zusammenhang mit der Größe des linken Atriums sowie dem endsystolischen Durchmesser des linken Ventrikels (HORI et al., 2008a; FOX et al., 2009) oder dem enddiastolischen Volumen, bezogen auf die Körperoberfläche, herstellen (CHETBOUL et al., 2009).

Die Limitation dieser Studie besteht in der Tatsache, dass ein Großteil der Hunde der gesunden Kontrollgruppe nicht bis zu ihrem Lebensende evaluiert werden konnten. Dies könnte bedeuten, dass in diese Gruppe Hunde eingeschlossen wurden, die zwar zum Untersuchungszeitpunkt unauffällig, genetisch determiniert aber an Kardiomyopathie erkranken werden. Dies hätte zur Folge, wenn man die Werte der noch normalen Gruppe bedenkt, dass der Referenzwert niedriger ausfallen könnte. Dadurch würde sich eventuell auch der Cut-off zur Identifizierung erkrankter Tiere senken oder die Sensitivität erhöhen lassen.

Die Messung von NTpro-BNP kann die etablierten Methoden zur Diagnose der Kardiomyopathie beim Dobermann bis jetzt nicht ersetzen. Wenn die aufwändigen, eine hohe Spezialisierung erfordernden kardiologischen Diagnostika wie 24-Stunden-EKG und Echokardiographie nicht zur Verfügung

stehen, könnte die Bestimmung von NTpro-BNP jedoch einen Hinweis bezüglich der Dringlichkeit einer weiteren diagnostischen Aufarbeitung durch einen Kardiologen liefern. Gerade die gute Sensitivität von 90 % für NTpro-BNP zur Vorhersage echokardiographischer Veränderungen könnte zukünftig eventuell die echokardiographische Untersuchung ersetzen, nicht jedoch das 24-Stunden-EKG. Größere Studien sollten dies weiter evaluieren, bevor die derzeitigen Empfehlungen bezüglich des Screenings auf Kardiomyopathie beim Dobermann geändert werden. Es sollte in Langzeitstudien, in denen sichergestellt werden kann, dass die Kontrollgruppe definitiv aus genetisch gesunden Tieren besteht, geklärt werden, inwieweit NTpro-BNP bereits im subklinischen Stadium der Erkrankung ansteigt und ob sich NTpro-BNP eventuell als Biomarker zur Frühdiagnostik der Kardiomyopathie beim Dobermann etablieren lässt. Unter Beachtung der Tatsache, dass NTpro-BNP in der Humanmedizin in der Notfallmedizin zur Differenzierung von respiratorisch und kardial bedingter Dyspnoe bereits ein etablierter und zugelassener Biomarker ist und veterinärmedizinische Studien ähnliche Ergebnisse liefern, wäre die Entwicklung tierart-spezifischer Schnelltests wünschenswert.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Bis heute kann das okkulte Stadium der Kardiomyopathie beim Dobermann, die im europäischen Raum eine kumulative Prävalenz von 63 % aufweist (WESS et al., 2009b), in seinen verschiedenen Ausprägungen nur durch aufwändige und kostenintensive Methoden, wie dem 24-Stunden-EKG und der Echokardiographie, diagnostiziert werden. Die elektrokardiographischen und echokardiographischen Veränderungen treten im Allgemeinen allerdings erst in einem Alter auf, in dem die Hunde bereits im Zuchteinsatz waren. Im Hinblick auf die genetische Gesundheit des Dobermanns ist es von großer Bedeutung, die genetisch determinierte Kardiomyopathie bereits zu diagnostizieren, bevor sie weiter vererbt wird.

Ziel der vorliegenden Arbeit **Untersuchungen zu NTpro-BNP bei der dilatativen Kardiomyopathie des Dobermanns** war es zum einen, erstmalig NTpro-BNP beim gesunden Dobermann und in verschiedenen Stadien der Kardiomyopathie zu evaluieren und Referenzwerte zu erstellen, zum anderen, die Eignung von NTpro-BNP als (Früh-)Diagnostikum zu validieren. Dazu wurden 480 Untersuchungen an 250 gesunden und 108 erkrankten Hunden zwischen 2004 und 2008 analysiert. NTpro-BNP wurde im Plasma mittels dem ELISA VETSIGN™ Canine CardioSCREEN Ntpro-BNP, Guildhay Ltd., UK, bestimmt. Die Konzentration von NTpro-BNP stieg mit zunehmender Schwere der Erkrankung an. Die gesunde Kontrollgruppe mit einer mittleren NTpro-BNP-Konzentration von 315,7 pmol/l unterschied sich statistisch signifikant von den okkulten Gruppen und der dekompensierten Gruppe sowie der erkrankten Gesamtgruppe. Bei einem Cut-off von 413,8 pmol/l erreichte die Area Under the Curve (AUC) der ROC-Analyse 0,820, Sensitivität und Spezifität betragen 72,4 % und 80,2 % zur Unterscheidung von gesunden und an Kardiomyopathie erkrankten Hunden. Alter, Gewicht und Geschlecht hatten keinen Einfluss auf die NTpro-BNP-Konzentration. Echokardiographische Veränderungen können mit einer hohen Sensitivität (90 %) vorausgesagt werden. Besondere Beachtung verdient die Tatsache, dass NTpro-BNP bereits im okkulten Stadium mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen statistisch signifikant erhöht war.

Von besonderem Interesse ist die „noch normale Gruppe“, in die diejenigen Untersuchungen von Hunden eingegangen sind, die zu diesem Zeitpunkt

vollkommen unauffällig waren, im Verlauf von Kontrolluntersuchungen aber diagnostizierbare Veränderungen im Sinne einer Kardiomyopathie entwickelten. Obwohl der Mittelwert der noch normalen Gruppe mit 499,7 pmol/l über dem der Gruppe im okkulten Stadium mit ausschließlich ventrikulären Extrasystolen lag, erreichte er im Mehrfachvergleich nach Bonferroni dennoch keine statistische Signifikanz gegenüber der gesunden Gruppe. Dies könnte an der relativ geringen Anzahl von nur 17 Patienten in diesem Stadium liegen. Dass nicht alle Hunde der gesunden Gruppe bis zu ihrem Lebensende verfolgt werden konnten, stellt eine Limitation dieser Studie dar. Dadurch könnten in der Kontrollgruppe „noch gesunde“, aber genetisch determiniert kranke Hunde eingeschlossen worden sein. Dies hätte eventuell einen falsch hohen Referenzwert zur Folge. Es wird die Aufgabe von weiteren Langzeitstudien sein, den in vorliegender Untersuchung ermittelten Referenzwert anhand einer definitiv aus genetisch gesunden Tieren bestehenden Kontrollgruppe zu validieren. Auch die Tendenz zu erhöhten NTpro-BNP-Werten bereits im subklinischen Stadium der Erkrankung sollte anhand einer größeren Patientenpopulation weiter verfolgt werden um zu evaluieren, ob sich NTpro-BNP eventuell als Biomarker zur Frühdiagnostik der Kardiomyopathie beim Dobermann einsetzen lässt.

Die Messung von NTpro-BNP kann die etablierten Methoden zur Diagnose der okkulten Kardiomyopathie beim Dobermann derzeit nicht ersetzen. Wenn die aufwändigen, eine hohe Spezialisierung erfordernden kardiologischen Diagnostika wie 24-Stunden-EKG und Echokardiographie nicht zur Verfügung stehen, könnte die Bestimmung von NTpro-BNP jedoch einen Hinweis bezüglich der Dringlichkeit einer weiteren diagnostischen Aufarbeitung durch einen Kardiologen liefern. Aufgrund der hohen Sensitivität von 90 % zur Vorhersage von echokardiographischen Veränderungen könnte die NTpro-BNP-Messung zukünftig eventuell die echokardiographische Untersuchung ersetzen, nicht jedoch das 24-Stunden-EKG.

VII. SUMMARY

Up to now, the occult phase of the cardiomyopathy in Doberman Pinschers, with a cumulative prevalence of 63 % in Europe (WESS et al., 2009b), can only be diagnosed by specialized and cost-intensive methods, such as the 24-h-ECG (Holter) and the echocardiogram. Electrocardiographic and echocardiographic changes usually appear at an age, in which the dogs were already used for breeding. Considering the genetic health of the Doberman Pinscher breed, it is of great importance to diagnose the genetically determined cardiomyopathy before it can be passed on to the offspring.

The aim of this study **Analysis of NTpro-BNP in Dilated Cardiomyopathy of the Doberman Pinscher** was to evaluate NTpro-BNP in the Doberman Pinscher population, in healthy animals as well as in various stages of cardiomyopathy, to define reference values and to validate the use of NTpro-BNP as a diagnostic tool. Therefore, 250 healthy and 108 dogs with cardiomyopathy were studied between 2004 and 2008, in total 480 examinations. NTpro-BNP measurements were performed in plasma samples, using the ELISA VETSIGN™ Canine CardioSCREEN Ntpro-BNP, Guildhay Ltd., UK.

NTpro-BNP concentrations increased in correlation with the severity of disease. There was a statistically significant difference between the healthy control group (mean 315.7 pmol/l) and the occult and decompensated groups as well as the whole dog population with cardiomyopathy. To differentiate healthy dogs from dogs with cardiomyopathy, a cut-off value of 413.8 pmol/l was established that provided an area under the receiver operator curve of 0.820, with a sensitivity and specificity of 72.4 % and 80.2 %, respectively. There was no significant influence of age, weight or sex on the NTpro-BNP concentration. Sensitivity reached 90.0 % for predicting abnormal echocardiographic changes. Interestingly, there was a statistically significant increase of NTpro-BNP in the occult group with exclusively VPCs even before echocardiographic changes were present.

The “still normal” group, consisting of examinations of dogs that appeared to be healthy without any measurable signs at that time, but which later on developed cardiomyopathy, is highly interesting. Although the mean NTpro-BNP level (499.7 pmol/l) was higher than the mean NTpro-BNP concentration in the occult group with exclusively VPCs, no statistically significant difference was achieved

in comparison to the healthy control group using Bonferroni's equitation. The small number of only 17 dogs in this group might be a reason for the lack of statistical significance.

One limitation of this study is the fact that not all dogs, especially those in the healthy control group, could be followed up to the end of their lives. Therefore, it might be possible that "still healthy" dogs with genetically determined cardiomyopathy are included in the healthy control group. As a consequence, the reference value could be falsely high.

Long-term studies will be needed to validate the reference value in a group of definitively genetically healthy animals. The tendency to higher NTpro-BNP values in the still normal group also should be studied in a larger population in order to evaluate the potential of NTpro-BNP as an early marker of cardiomyopathy in Doberman Pinschers.

NTpro-BNP cannot replace the Holter ECG and echocardiographic measurements in the diagnosis of occult cardiomyopathy at present. But if the time-consuming and cost-intensive methods that require a high specialization are not available, NTpro-BNP levels could indicate the necessity of referring the patient to a cardiologist. Because of the high sensitivity of 90 % for predicting abnormal echocardiographic changes, it might be possible that the measurement of NTpro-BNP eventually could replace the echocardiographic examination, but not the Holter-ECG.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abdullah SM, Khera A, Das SR, Stanek HG, Canham RM, Chung AK, Morrow DA, Drazner MH, McGuire DK, de Lemos JA. Relation of coronary atherosclerosis determined by electron beam computed tomography and plasma levels of n-terminal pro-brain natriuretic peptide in a multiethnic population-based sample (the Dallas Heart Study). *Am J Cardiol* 2005; 96: 1284-9.
2. Achen SE, Gordon SG, Roland RM, Saunders AB, Boggess MM, Miller MW. Serial Evaluation of NT-proBNP in Dogs with CHF Predicts Clinical Score and the Presence or Absence of Radiographic Pulmonary Edema. *J Vet Intern Med* [abstract] 2009; 23: 687.
3. Ackerman BH, Wyeth RP, Vesely DL, Ngo WL, Bissett JK, Winters CJ, Sallman AL. Pharmacokinetic characterization of the postdistribution phase of prohormone atrial natriuretic peptides amino acids 1-98, 31-67, and atrial natriuretic factor during and after rapid right ventricular pacing in dogs. *J Clin Pharmacol* 1992; 32: 415-21.
4. Aitken GD, Raizis AM, Yandle TG, George PM, Espiner EA, Cameron VA. The characterization of ovine genes for atrial, brain, and C-type natriuretic peptides. *Domest Anim Endocrinol* 1999; 16: 115-21.
5. Akabane S, Matsushima Y, Matsuo H, Kawamura M, Imanishi M, Omae T. Effects of brain natriuretic peptide on renin secretion in normal and hypertonic saline-infused kidney. *Eur J Pharmacol* 1991; 198: 143-8.
6. Alonso-Martinez JL, Urbieta-Echezarreta M, Annicchero-Sanchez FJ, Abinzano-Guillen ML, Garcia-Sanchotena JL. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predicts the burden of pulmonary embolism. *Am J Med Sci* 2009; 337: 88-92.
7. Amir NL, Gerber IL, Edmond JJ, Langlands JM, Richards AM, Ruygrok PN. Plasma B-type natriuretic peptide levels in cardiac donors. *Clin Transplant* 2009; 23: 174-7.
8. Anand IS, Fisher LD, Chiang YT, Latini R, Masson S, Maggioni AP, Glazer RD, Tognoni G, Cohn JN. Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Circulation* 2003; 107: 1278-83.
9. Ang DS, Kong CF, Kao MP, Struthers AD. Serial bedside B-type natriuretic peptide strongly predicts prognosis in acute coronary syndrome independent of echocardiographic abnormalities. *Am Heart J* 2009; 158: 133-40.

10. Apitz C, Sieverding L, Latus H, Uebing A, Schoof S, Hofbeck M. Right Ventricular Dysfunction and B-Type Natriuretic Peptide in Asymptomatic Patients After Repair for Tetralogy of Fallot. *Pediatr Cardiol* 2009; 30: 898-904.
11. Arnaldo FJ, Anatoliotakis N, Palacio C, Nabert DR, Hsu SS. Increased N-terminal-pro-B-type natriuretic peptide levels in patients with appropriate implantable defibrillator therapies. *Heart Lung* 2009; 38: 10-6.
12. Aronson D, Burger AJ. Intravenous nesiritide (human B-type natriuretic peptide) reduces plasma endothelin-1 levels in patients with decompensated congestive heart failure. *Am J Cardiol* 2002; 90: 435-8.
13. Aronson D, Burger AJ. Effect of nesiritide (human b-type natriuretic peptide) and dobutamine on heart rate variability in decompensated heart failure. *Am Heart J* 2004; 148: 920-6.
14. Arques S, Jaubert MP, Bonello L, Roux E, Armero S, Sbragia P, Nicoud A, Paganelli F. Usefulness of basal B-type natriuretic peptide levels for the diagnosis of diastolic heart failure in young patients: An echocardiographic-catheterization study. *Int J Cardiol* 2009: published online 25 April 2009.
15. Asano K, Kadosawa T, Okumura M, Fujinaga T. Peri-operative changes in echocardiographic measurements and plasma atrial and brain natriuretic peptide concentrations in 3 dogs with patent ductus arteriosus. *J Vet Med Sci* 1999a; 61: 89-91.
16. Asano K, Masuda K, Okumura M, Kadosawa T, Fujinaga T. Plasma atrial and brain natriuretic peptide levels in dogs with congestive heart failure. *J Vet Med Sci* 1999b; 61: 523-9.
17. Asano K, Murakami M, Endo D, Kimura T, Fujinaga T. Complementary DNA cloning, tissue distribution, and synthesis of canine brain natriuretic peptide. *Am J Vet Res* 1999c; 60: 860-4.
18. Atkinson KJ, Fine DM, Thombs LA, Gorelick JJ, Durham HE. Evaluation of Pimobendan and N-Terminal Probrain Natriuretic Peptide in the Treatment of Pulmonary Hypertension Secondary to Degenerative Mitral Valve Disease in Dogs. *J Vet Intern Med* 2009: published online Sep 22 2009.
19. Attridge JT, Kaufman DA, Lim DS. B-type natriuretic peptide concentrations to guide treatment of patent ductus arteriosus. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2009; 94: F178-82.
20. Barr CS, Rhodes P, Struthers AD. C-type natriuretic peptide. *Peptides* 1996; 17: 1243-51.

21. Bassan R, Tura BR, Maisel AS. B-type natriuretic peptide: a strong predictor of early and late mortality in patients with acute chest pain without ST-segment elevation in the emergency department. *Coron Artery Dis* 2009; 20: 143-9.
22. Baughman KL. B-type natriuretic peptide - a window to the heart. *N Engl J Med* 2002; 347: 158-9.
23. Baumwart RD, Meurs KM. Assessment of plasma brain natriuretic peptide concentration in Boxers with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Vet Res* 2005; 66: 2086-9.
24. Bayes-Genis A, Lloyd-Jones DM, van Kimmenade RR, Lainchbury JG, Richards AM, Ordonez-Llanos J, Santalo M, Pinto YM, Januzzi JL, Jr. Effect of body mass index on diagnostic and prognostic usefulness of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with acute dyspnea. *Arch Intern Med* 2007; 167: 400-7.
25. Behera SK, Zuccaro JC, Wetzel GT, Alejos JC. Nesiritide improves hemodynamics in children with dilated cardiomyopathy: a pilot study. *Pediatr Cardiol* 2009; 30: 26-34.
26. Berger R, Huelsman M, Strecker K, Bojic A, Moser P, Stanek B, Pacher R. B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2002; 105: 2392-7.
27. Best PJ, Burnett JC, Wilson SH, Holmes DR, Jr., Lerman A. Dendroaspis natriuretic peptide relaxes isolated human arteries and veins. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 375-84.
28. Betti I, Castelli G, Barchielli A, Beligni C, Boscherini V, De Luca L, Messeri G, Gheorghide M, Maisel A, Zuppiroli A. The role of N-terminal PRO-brain natriuretic peptide and echocardiography for screening asymptomatic left ventricular dysfunction in a population at high risk for heart failure. The PROBE-HF study. *J Card Fail* 2009; 15: 377-84.
29. Biondo AW, Ehrhart EJ, Sisson DD, Bulmer BJ, De Morais HS, Solter PF. Immunohistochemistry of atrial and brain natriuretic peptides in control cats and cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Vet Pathol* 2003; 40: 501-6.
30. Biondo AW, Liu ZL, Wiedmeyer CE, de Morais HS, Sisson DD, Solter PE. Genomic sequence and cardiac expression of atrial natriuretic peptide in cats. *Am J Vet Res* 2002; 63: 236-40.
31. Boag AK. Use of proatrial natriuretic peptide 31-67 ELISA for distinguishing between cardiac and noncardiac causes of cough, dyspnea, and ascites in dogs. *J Vet Intern Med* [abstract] 2003; 17: 397.

32. Boerrigter G, Costello-Boerrigter LC, Harty GJ, Huntley BK, Cataliotti A, Lapp H, Burnett JC, Jr. B-type natriuretic peptide 8-32, which is produced from mature BNP 1-32 by the metalloprotease meprin A, has reduced bioactivity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009; 296: 1744-50.
33. Boon JA. *Manual of Veterinary Echocardiography*. 1st ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 1998.
34. Boswood A, Attree S, Page K. Clinical validation of a proANP 31-67 fragment ELISA in the diagnosis of heart failure in the dog. *J Small Anim Pract* 2003; 44: 104-8.
35. Boswood A, Dukes-McEwan J, Loureiro J, James RA, Martin M, Stafford-Johnson M, Smith P, Little C, Attree S. The diagnostic accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine cardiac disease. *J Small Anim Pract* 2008; 49: 26-32.
36. Braunwald E. Biomarkers in heart failure. *N Engl J Med* 2008; 358: 2148-59.
37. Bruder O, Jensen C, Jochims M, Farazandeh M, Barkhausen J, Schlosser T, Sabin GV, Hunold P. Relation of B-type natriuretic peptide (BNP) and infarct size as assessed by contrast-enhanced MRI. *Int J Cardiol* 2009: published online 1 May 2009.
38. Bruins S, Fokkema MR, Romer JW, Dejongste MJ, van der Dijs FP, van den Ouweland JM, Muskiet FA. High intraindividual variation of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with stable chronic heart failure. *Clin Chem* 2004; 50: 2052-8.
39. 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: 1221-7.
40. Burger AJ, Aronson D, Horton DP, Burger MR. Comparison of the effects of dobutamine and nesiritide (B-type natriuretic peptide) on ventricular ectopy in acutely decompensated ischemic versus nonischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2003; 91: 1370-2.
41. Burger AJ, Elkayam U, Neibaur MT, Haught H, Ghali J, Horton DP, Aronson D. Comparison of the occurrence of ventricular arrhythmias in patients with acutely decompensated congestive heart failure receiving dobutamine versus nesiritide therapy. *Am J Cardiol* 2001; 88: 35-9.
42. Burger AJ, Horton DP, LeJemtel T, Ghali JK, Torre G, Dennish G, Koren M, Dinerman J, Silver M, Cheng ML, Elkayam U. Effect of nesiritide (B-type natriuretic peptide) and dobutamine on ventricular arrhythmias in the treatment of patients with acutely decompensated congestive heart failure: the PRECEDENT study. *Am Heart J* 2002; 144: 1102-8.

43. Calvert CA. Diagnosis and management of ventricular tachyarrhythmias in Doberman pinschers with cardiomyopathy. In: Kirk RW, Bonagura JD, editors. *Current Veterinary Therapy XII Small Animal Practice*. Toronto: W. B. Saunders; 1995: 799-806.
44. Calvert CA, Brown J. Use of M-mode echocardiography in the diagnosis of congestive cardiomyopathy in Doberman pinschers. *J Am Vet Med Assoc* 1986; 189: 293-7.
45. Calvert CA, Brown J. Influence of antiarrhythmia therapy on survival times of 19 clinically healthy Doberman pinschers with dilated cardiomyopathy that experienced syncope, ventricular tachycardia, and sudden death (1985-1998). *J Am Anim Hosp Assoc* 2004; 40: 24-8.
46. Calvert CA, Chapman WLJr, Toal RL. Congestive cardiomyopathy in Doberman pinscher dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 181: 598-602.
47. Calvert CA, Hall G, Jacobs G, Pickus C. Clinical and pathologic findings in Doberman pinschers with occult cardiomyopathy that died suddenly or developed congestive heart failure: 54 cases (1984-1991). *J Am Vet Med Assoc* 1997a; 210: 505-11.
48. Calvert CA, Jacobs G, Pickus CW, Smith DD. Results of ambulatory electrocardiography in overtly healthy Doberman Pinschers with echocardiographic abnormalities. *J Am Vet Med Assoc* 2000a; 217: 1328-32.
49. Calvert CA, Jacobs GJ. Heart rate variability in Doberman Pinschers with and without echocardiographic evidence of dilated cardiomyopathy. *Am J Vet Res* 2000; 61: 506-11.
50. Calvert CA, Jacobs GJ, Kraus M. Possible ventricular late potentials in Doberman pinschers with occult cardiomyopathy. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 235-9.
51. Calvert CA, Jacobs GJ, Smith DD, Rathbun SL, Pickus CW. Association between results of ambulatory electrocardiography and development of cardiomyopathy during long-term follow-up of Doberman pinschers. *J Am Vet Med Assoc* 2000b; 216: 34-9.
52. Calvert CA, Pickus CW, Jacobs GJ, Brown J. Signalment, survival, and prognostic factors in Doberman pinschers with end-stage cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* 1997b; 11: 323-6.
53. Calvert CA, Wall M. Results of ambulatory electrocardiography in overtly healthy Doberman Pinschers with equivocal echocardiographic evidence of dilated cardiomyopathy. *J Am Vet Med Assoc* 2001a; 219: 782-4.

54. Calvert CA, Wall TM. Correlations among time and frequency measures of heart rate variability recorded by use of a Holter monitor in overtly healthy Doberman pinschers with and without echocardiographic evidence of dilated cardiomyopathy. *Am J Vet Res* 2001b; 62: 1787-92.
55. Campana C, Pasotti M, Klersy C, Alessandrino G, Albertini R, Magrini G, Ghio S, Tavazzi L. Baseline and 6-month B-type natriuretic peptide changes are independent predictors of events in patients with advanced heart failure awaiting cardiac transplantation. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2009; 10: 671-6.
56. Cao L, Gardner DG. Natriuretic peptides inhibit DNA synthesis in cardiac fibroblasts. *Hypertension* 1995; 25: 227-34.
57. Carvajal JA, Aguan K, Thompson LP, Buhimschi IA, Weiner CP. Natriuretic peptide-induced relaxation of myometrium from the pregnant guinea pig is not mediated by guanylate cyclase activation. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297: 181-8.
58. Casals G, Ros J, Sionis A, Davidson MM, Morales-Ruiz M, Jimenez W. Hypoxia Induces B-Type Natriuretic Peptide Release in Cell Lines Derived from Human Cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297: 550-5.
59. Cataliotti A, Boerrigter G, Costello-Boerrigter LC, Schirger JA, Tsuruda T, Heublein DM, Chen HH, Malatino LS, Burnett JC, Jr. Brain natriuretic peptide enhances renal actions of furosemide and suppresses furosemide-induced aldosterone activation in experimental heart failure. *Circulation* 2004; 109: 1680-5.
60. Cataliotti A, Chen HH, Schirger JA, Martin FL, Boerrigter G, Costello-Boerrigter LC, James KD, Polowy K, Miller MA, Malkar NB, Bailey KR, Burnett JC, Jr. Chronic actions of a novel oral B-type natriuretic peptide conjugate in normal dogs and acute actions in angiotensin II-mediated hypertension. *Circulation* 2008; 118: 1729-36.
61. Cataliotti A, Schirger JA, Martin FL, Chen HH, McKie PM, Boerrigter G, Costello-Boerrigter LC, Harty G, Heublein DM, Sandberg SM, James KD, Miller MA, Malkar NB, Polowy K, Burnett JC, Jr. Oral human brain natriuretic peptide activates cyclic guanosine 3',5'-monophosphate and decreases mean arterial pressure. *Circulation* 2005; 112: 836-40.
62. Charpentier J, Luyt CE, Fulla Y, Vinsonneau C, Cariou A, Grabar S, Dhainaut JF, Mira JP, Chiche JD. Brain natriuretic peptide: A marker of myocardial dysfunction and prognosis during severe sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32: 660-5.
63. Chen HH, Cataliotti A, Schirger JA, Martin FL, Harstad LK, Burnett JC, Jr. Local renal delivery of a natriuretic peptide a renal-enhancing strategy for B-type natriuretic peptide in overt experimental heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2009a; 53: 1302-8.

64. Chen HH, Lainchbury JG, Burnett JC, Jr. Natriuretic peptide receptors and neutral endopeptidase in mediating the renal actions of a new therapeutic synthetic natriuretic peptide dendroaspis natriuretic peptide. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 1186-91.
65. Chen HH, Martin FL, Gibbons RJ, Schirger JA, Wright RS, Schears RM, Redfield MM, Simari RD, Lerman A, Cataliotti A, Burnett JC. Low dose nesiritide in human anterior myocardial infarction suppresses aldosterone and preserves ventricular function and structure: a proof of concept study. *Heart* 2009b; 95: 1315-9.
66. Chetboul V, Serres F, Tissier R, Lefebvre HP, Sampedrano CC, Gouni V, Poujol L, Hawa G, Pouchelon JL. Association of Plasma N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Concentration with Mitral Regurgitation Severity and Outcome in Dogs with Asymptomatic Degenerative Mitral Valve Disease. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 984-94.
67. Chetboul V, Tessier-Vetzel D, Escriou C, Tissier R, Carlos C, Boussouf M, Pouchelon JL, Blot S, Derumeaux G. Diagnostic potential of natriuretic peptides in the occult phase of golden retriever muscular dystrophy cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* 2004; 18: 845-50.
68. Cil T, Kaplan AM, Altintas A, Akin AM, Alan S, Isikdogan A. Use of N-terminal pro-brain natriuretic peptide to assess left ventricular function after adjuvant doxorubicin therapy in early breast cancer patients: a prospective series. *Clin Drug Investig* 2009; 29: 131-7.
69. Ciuraszkiewicz K, Janion M, Dudek D, Gawor Z. Plasma B-type natriuretic peptide as a marker of myocardial asynchrony. *Cardiology* 2009a; 113: 193-7.
70. Ciuraszkiewicz K, Janion M, Sielski J, Dudek D, Gawor Z. Post-myocardial Infarction Intraventricular Conduction Defects and B-type Natriuretic Peptide Levels. *Clin Cardiol* 2009b; 32: 12-7.
71. Clarkson PB, Wheeldon NM, MacFadyen RJ, Pringle SD, MacDonald TM. Effects of brain natriuretic peptide on exercise hemodynamics and neurohormones in isolated diastolic heart failure. *Circulation* 1996; 93: 2037-42.
72. Clerico A, Iervasi G, Del Chicca MG, Emdin M, Maffei S, Nannipieri M, Sabatino L, Forini F, Manfredi C, Donato L. Circulating levels of cardiac natriuretic peptides (ANP and BNP) measured by highly sensitive and specific immunoradiometric assays in normal subjects and in patients with different degrees of heart failure. *J Endocrinol Invest* 1998; 21: 170-9.
73. Cohen-Solal A, Logeart D, Huang B, Cai D, Nieminen MS, Mebazaa A. Lowered B-type natriuretic peptide in response to levosimendan or dobutamine treatment is associated with improved survival in patients with severe acutely decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53: 2343-8.

74. Colucci WS. Nesiritide for the treatment of decompensated heart failure. *J Card Fail* 2001; 7: 92-100.
75. Colucci WS, Elkayam U, Horton DP, Abraham WT, Bourge RC, Johnson AD, Wagoner LE, Givertz MM, Liang CS, Neibaur M, Haught WH, LeJemtel TH. Intravenous nesiritide, a natriuretic peptide, in the treatment of decompensated congestive heart failure. Nesiritide Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 246-53.
76. Connolly DJ, Magalhaes RJ, Syme HM, Boswood A, Fuentes VL, Chu L, Metcalf M. Circulating natriuretic peptides in cats with heart disease. *J Vet Intern Med* 2008a; 22: 96-105.
77. Connolly DJ, Soares Magalhaes RJ, Fuentes VL, Boswood A, Cole G, Boag A, Syme HM. Assessment of the diagnostic accuracy of circulating natriuretic peptide concentrations to distinguish between cats with cardiac and non-cardiac causes of respiratory distress. *J Vet Cardiol* 2009; 11 Suppl 1: 41-50.
78. Connolly DJ, Soares Magalhaes RJ, Luis Fuentes V, Syme HM, Cole G, Boag AM. Circulating Natriuretic Peptides Concentrations in Cats with Respiratory Distress. *J Vet Intern Med* [abstract] 2008b; 22: 719.
79. Coppola G, Corrado E, Mule MC, Augugliaro S, Cucchiara A, Novo G, Amoroso G, Assennato P, Hoffmann E, Vitale F, Novo S. Analysis of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *Coron Artery Dis* 2009; 20: 225-9.
80. Crozier IG, Nicholls MG, Ikram H, Espiner EA, Gomez HJ, Warner NJ. Haemodynamic effects of atrial peptide infusion in heart failure. *Lancet* 1986; 2: 1242-5.
81. Daniels LB, Clopton P, Bhalla V, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P, Omland T, Storrow AB, Abraham WT, Wu AH, Steg PG, Westheim A, Knudsen CW, Perez A, Kazanegra R, Herrmann HC, McCullough PA, Maisel AS. How obesity affects the cut-points for B-type natriuretic peptide in the diagnosis of acute heart failure. Results from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am Heart J* 2006; 151: 999-1005.
82. Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, Canham RM, Chung AK, Leonard D, Wians FH, Jr., de Lemos JA. Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides: results from the Dallas Heart Study. *Circulation* 2005; 112: 2163-8.
83. De Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 1981; 28: 89-94.

84. De Francesco TC, Rush JE, Rozanski EA, Hansen BD, Keene BW, Moore DT, Atkins CE. Prospective clinical evaluation of an ELISA B-type natriuretic peptide assay in the diagnosis of congestive heart failure in dogs presenting with cough or dyspnea. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 243-50.
85. De Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet* 2003; 362: 316-22.
86. De Lemos JA, Morrow DA, Bentley JH, Omland T, Sabatine MS, McCabe CH, Hall C, Cannon CP, Braunwald E. The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001; 345: 1014-21.
87. Del Ry S, Passino C, Emdin M, Giannessi D. C-type natriuretic peptide and heart failure. *Pharmacol Res* 2006; 54: 326-33.
88. Dessi-Fulgheri P, Sarzani R, Rappelli A. The natriuretic peptide system in obesity-related hypertension: new pathophysiological aspects. *J Nephrol* 1998; 11: 296-9.
89. Dickey DM, Flora DR, Bryan PM, Xu X, Chen Y, Potter LR. Differential regulation of membrane guanylyl cyclases in congestive heart failure: natriuretic peptide receptor (NPR)-B, Not NPR-A, is the predominant natriuretic peptide receptor in the failing heart. *Endocrinology* 2007; 148: 3518-22.
90. Dokainish H, Zoghbi WA, Lakkis NM, Ambriz E, Patel R, Quinones MA, Nagueh SF. Incremental predictive power of B-type natriuretic peptide and tissue Doppler echocardiography in the prognosis of patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1223-6.
91. Dontas ID, Xanthos T, Dontas I, Lelovas P, Papadimitriou L. Impact of nesiritide on renal function and mortality in patients suffering from heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther* 2009; 23: 221-33.
92. Drourr LT, Gordon SG, Roland RM, Saunders AB, Achen SE, Miller MW. NT-pro-BNP Concentration in Preclinical (ISACHC 1a & 1b) Chronic Degenerative Atrioventricular Valve Disease. *ACVIM Forum Proceedings*; 2008; San Antonio, Texas.
93. Dudek D, Rzeszutko L, Petkow Dimitrow P, Bartus S, Sorysz D, Chyrchel M, Rakowski T, Zdzienicka A, Guevara I, Dembinska-Kiec A, Dubiel JS. Circulating N-terminal brain natriuretic peptide precursor and endothelin levels in patients with syndrome X and left bundle branch block with preserved systolic function. *Int J Cardiol* 2001; 79: 25-30.
94. Dussaule JC, Michel C, Peraldi MN, Lecomte JM, Gros C, Mignon F, Ardaillou R. Inhibition of neutral endopeptidase stimulates renal sodium excretion in patients with chronic renal failure. *Clin Sci (Lond)* 1993a; 84: 31-9.

95. Dussaule JC, Stefanski A, Bea ML, Ronco P, Ardaillou R. Characterization of neutral endopeptidase in vascular smooth muscle cells of rabbit renal cortex. *Am J Physiol* 1993b; 264: 45-52.
96. El-Gehani F, Tena-Sempere M, Ruskoaho H, Huhtaniemi I. Natriuretic peptides stimulate steroidogenesis in the fetal rat testis. *Biol Reprod* 2001; 65: 595-600.
97. Elkayam U, Akhter MW, Singh H, Khan S, Usman A. Comparison of effects on left ventricular filling pressure of intravenous nesiritide and high-dose nitroglycerin in patients with decompensated heart failure. *Am J Cardiol* 2004; 93: 237-40.
98. Eriksson AS, Jarvinen AK, Eklund KK, Vuolteenaho OJ, Toivari MH, Nieminen MS. Effect of age and body weight on neurohumoral variables in healthy Cavalier King Charles spaniels. *Am J Vet Res* 2001; 62: 1818-24.
99. Espiner EA, Nicholls MG, Yandle TG, Crozier IG, Cuneo RC, McCormick D, Ikram H. Studies on the secretion, metabolism and action of atrial natriuretic peptide in man. *J Hypertens Suppl* 1986; 4: S85-91.
100. Everett RM, McGann J, Wimberly HC, Althoff J. Dilated cardiomyopathy of Doberman pinschers: retrospective histomorphologic evaluation of heart from 32 cases. *Vet Pathol* 1999; 36: 221-7.
101. Farace G, Beardow A, Carpenter C, Yeung K, Zieba M, Ettinger SJ, Forney SD. Effect of Shipping Temperature on Canine N-Terminal Prohormone Atrial Natriuretic Peptide & N-Terminal Prohormone Brain natriuretic Peptide. *ACVIM Forum Proceedings*; 2008; San Antonio, Texas.
102. Farace G, Ettinger SJ, Forney S, Beardow A, Carrier A, Yeung K. Pulmonary Hypertension and N-Terminal Prohormone Brain Natriuretic Peptide in Dogs. *J Vet Intern Med* [abstract] 2009a; 23: 687.
103. Farace G, Ettinger SJ, Forney S, Beardow A, Carrier A, Yeung K. Correlation of N-Terminal Prohormone Brain Natriuretic Peptide with Left Ventricular Outflow Tract in Dogs with Sub Aortic Stenosis. *J Vet Intern Med* [abstract] 2009b; 23: 685.
104. Feigenbaum H. Specialized echocardiographic techniques and methods. In: Feigenbaum H, Armstrong W, Ryan T, editors. *Feigenbaum's Echocardiography*. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams; 2005: 46-75.
105. Fellahi JL, Hanouz JL, Manach YL, Gue X, Monier E, Guillou L, Riou B. Simultaneous Measurement of Cardiac Troponin I, B-type Natriuretic Peptide, and C-reactive Protein for the Prediction of Long-term Cardiac Outcome after Cardiac Surgery. *Anesthesiology* 2009; 111: 250-7.

106. Fine DM, Declue AE, Reiner CR. Evaluation of circulating amino terminal-pro-B-type natriuretic peptide concentration in dogs with respiratory distress attributable to congestive heart failure or primary pulmonary disease. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232: 1674-9.

107. Forfia PR, Watkins SP, Rame JE, Stewart KJ, Shapiro EP. Relationship between B-type natriuretic peptides and pulmonary capillary wedge pressure in the intensive care unit. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1667-71.

108. Forssmann K, Hock D, Herbst F, Schulz-Knappe P, Talartschik J, Scheler F, Forssmann WG. Isolation and structural analysis of the circulating human cardiodilatin (alpha ANP). *Klin Wochenschr* 1986; 64: 1276-80.

109. Forssmann WG, Richter R, Meyer M. The endocrine heart and natriuretic peptides: histochemistry, cell biology, and functional aspects of the renal urodilatin system. *Histochem Cell Biol* 1998; 110: 335-57.

110. Fox PR, Oyama MA, MacDonald KA, Reynolds CA. Assessment of NTproBNP Concentration in Asymptomatic Cats with Cardiomyopathy. *ACVIM Forum Proceedings*; 2008; San Antonio, Texas.

111. Fox PR, Oyama MA, Reynolds C, Rush JE, DeFrancesco TC, Keene BW, Atkins CE, Macdonald KA, Schober KE, Bonagura JD, Stepien RL, Kellihan HB, Nguyenba TP, Lehmkuhl LB, Lefbom BK, Moise NS, Hogan DF. Utility of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) to distinguish between congestive heart failure and non-cardiac causes of acute dyspnea in cats. *J Vet Cardiol* 2009; 11 Suppl 1: 51-61.

112. Frankenstein L, Clark AL, Goode K, Ingle L, Remppis A, Schellberg D, Grabs F, Nelles M, Cleland JG, Katus HA, Zugck C. The prognostic value of individual NT-proBNP values in chronic heart failure does not change with advancing age. *Heart* 2009; 95: 825-9.

113. Fruhwald FM, Fahrleitner-Pammer A, Berger R, Leyva F, Freemantle N, Erdmann E, Gras D, Kappenberger L, Tavazzi L, Daubert JC, Cleland JG. Early and sustained effects of cardiac resynchronization therapy on N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with moderate to severe heart failure and cardiac dyssynchrony. *Eur Heart J* 2007; 28: 1592-7.

114. Fuentes VL, Corcoran B, French A, Schober KE, Kleemann R, Justus C. A double-blind, randomized, placebo-controlled study of pimobendan in dogs with dilated cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 255-61.

115. Fujisaki H, Ito H, Hirata Y, Tanaka M, Hata M, Lin M, Adachi S, Akimoto H, Marumo F, Hiroe M. Natriuretic peptides inhibit angiotensin II-induced proliferation of rat cardiac fibroblasts by blocking endothelin-1 gene expression. *J Clin Invest* 1995; 96: 1059-65.

116. Gagelmann M, Hock D, Forssmann WG. Urodilatin (CDD/ANP-95-126) is not biologically inactivated by a peptidase from dog kidney cortex membranes in contrast to atrial natriuretic peptide/cardiodylatin (α -hANP/CDD-99-126). *FEBS Lett* 1988; 233: 249-54.
117. Galante O, Amit G, Zahger D, Wagshal A, Ilia R, Katz A. B-type natriuretic peptide levels stratify the risk for arrhythmia among implantable cardioverter defibrillator patients. *Clin Cardiol* 2008; 31: 586-9.
118. Galvin JM, Ruskin JN. Ventricular Tachycardia in Patients with Dilated Cardiomyopathy. In: Zipes DP, Jalife J, editors. *Cardiac Electrophysiology from Cell to Bedside*. 4th ed. Philadelphia: Saunders; 2004: 575-86.
119. Gan CT, McCann GP, Marcus JT, van Wolferen SA, Twisk JW, Boonstra A, Postmus PE, Vonk-Noordegraaf A. NT-proBNP reflects right ventricular structure and function in pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2006; 28: 1190-4.
120. Gao P, Qian DH, Li W, Huang L. NPRA-mediated suppression of AngII-induced ROS production contribute to the antiproliferative effects of B-type natriuretic peptide in VSMC. *Mol Cell Biochem* 2009; 324: 165-72.
121. Garcia S, Akbar MS, Ali SS, Kamdar F, Tsai MY, Duprez DA. N-terminal pro B-type natriuretic peptide predicts mortality in patients with left ventricular hypertrophy. *Int J Cardiol* 2009: published online 7 April 2009.
122. Garrido IP, Pascual-Figal DA, Nicolas F, Gonzalez-Carrillo MJ, Manzano-Fernandez S, Sanchez-Mas J, Valdes-Chavarri M. Usefulness of serial monitoring of B-type natriuretic peptide for the detection of acute rejection after heart transplantation. *Am J Cardiol* 2009; 103: 1149-53.
123. Gehlen H, Sundermann T, Rohn K, Stadler P. Plasma atrial natriuretic peptide concentration in warmblood horses with heart valve regurgitations. *J Vet Cardiol* 2007; 9: 99-101.
124. George I, Morrow B, Xu K, Yi GH, Holmes JW, Wu EX, Li Z, Protter AA, Oz MC, Wang J. Prolonged Effects of B-Type Natriuretic Peptide Infusion on Cardiac Remodeling After Sustained Myocardial Injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297: 708-17.
125. Goei D, Hoeks SE, Boersma E, Winkel TA, Dunkelgrun M, Flu WJ, Schouten O, Bax JJ, Poldermans D. Incremental value of high-sensitivity C-reactive protein and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide for the prediction of postoperative cardiac events in noncardiac vascular surgery patients. *Coron Artery Dis* 2009; 20: 219-24.
126. Goetze JP, Gore A, Moller CH, Steinbruchel DA, Rehfeld JF, Nielsen LB. Acute myocardial hypoxia increases BNP gene expression. *FASEB J* 2004; 18: 1928-30.

127. Goetze JP, Jensen G, Moller S, Bendtsen F, Rehfeld JF, Henriksen JH. BNP and N-terminal proBNP are both extracted in the normal kidney. *Eur J Clin Invest* 2006; 36: 8-15.
128. Greco DS, Biller B, Van Liew CH. Measurement of plasma atrial natriuretic peptide as an indicator of prognosis in dogs with cardiac disease. *Can Vet J* 2003; 44: 293-7.
129. Grewal J, McKelvie RS, Persson H, Tait P, Carlsson J, Swedberg K, Ostergren J, Lonn E. Usefulness of N-terminal pro-brain natriuretic Peptide and brain natriuretic peptide to predict cardiovascular outcomes in patients with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction. *Am J Cardiol* 2008; 102: 733-7.
130. Gunning M, Brenner BM. Urodilatin: a potent natriuretic peptide of renal origin. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1993; 2: 857-62.
131. Haggstrom J, Hansson K, Karlberg BE, Kwart C, Olsson K. Plasma concentration of atrial natriuretic peptide in relation to severity of mitral regurgitation in Cavalier King Charles Spaniels. *Am J Vet Res* 1994; 55: 698-703.
132. Haggstrom J, Hansson K, Kwart C, Karlberg BE, Vuolteenaho O, Olsson K. Effects of naturally acquired decompensated mitral valve regurgitation on the renin-angiotensin-aldosterone system and atrial natriuretic peptide concentration in dogs. *Am J Vet Res* 1997; 58: 77-82.
133. Haggstrom J, Hansson K, Kwart C, Pedersen HD, Vuolteenaho O, Olsson K. Relationship between different natriuretic peptides and severity of naturally acquired mitral regurgitation in dogs with chronic myxomatous valve disease. *J Vet Cardiol* 2000; 2: 7-16.
134. Hansson K, Haggstrom J, Kwart C, Lord P. Left atrial to aortic root indices using two-dimensional and M-mode echocardiography in cavalier King Charles spaniels with and without left atrial enlargement. *Vet Radiol Ultrasound* 2002; 43: 568-75.
135. Häussler N. Bestimmung des "Brain Natriuretic Peptide" (BNP) bei herzkranken Hunden [Hochschulschrift, Dissertation]. München: Ludwig-Maximilians-Universität; 2004.
136. He J, Chen Y, Huang Y, Yao F, Wu Z, Chen S, Wang L, Xiao P, Dai G, Meng R, Zhang C, Tang L, Li Z. Effect of long-term B-type natriuretic peptide treatment on left ventricular remodeling and function after myocardial infarction in rats. *Eur J Pharmacol* 2009; 602: 132-7.
137. Heim JM, Kiefersauer S, Fulle HJ, Gerzer R. Urodilatin and beta-ANF: binding properties and activation of particulate guanylate cyclase. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 163: 37-41.

138. Hernandez AF, O'Connor CM, Starling RC, Reist CJ, Armstrong PW, Dickstein K, Lorenz TJ, Gibler WB, Hasselblad V, Komajda M, Massie B, McMurray JJ, Nieminen M, Rouleau JL, Swedberg K, Califf RM. Rationale and design of the Acute Study of Clinical Effectiveness of Nesiritide in Decompensated Heart Failure Trial (ASCEND-HF). *Am Heart J* 2009; 157: 271-7.
139. Hillock RJ, Frampton CM, Yandle TG, Troughton RW, Lainchbury JG, Richards AM. B-type natriuretic peptide infusions in acute myocardial infarction. *Heart* 2008; 94: 617-22.
140. Hobbs RE, Mills RM. Therapeutic potential of nesiritide (recombinant b-type natriuretic peptide) in the treatment of heart failure. *Expert Opin Investig Drugs* 1999; 8: 1063-72.
141. Hogenhuis J, Voors AA, Jaarsma T, Hoes AW, Hillege HL, Kragten JA, van Veldhuisen DJ. Anaemia and renal dysfunction are independently associated with BNP and NT-proBNP levels in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail* 2007; 9: 787-94.
142. Hollister AS, Rodeheffer RJ, White FJ, Potts JR, Imada T, Inagami T. Clearance of atrial natriuretic factor by lung, liver, and kidney in human subjects and the dog. *J Clin Invest* 1989; 83: 623-8.
143. Hori Y, Tsubaki M, Katou A, Ono Y, Yonezawa T, Li X, Higuchi SI. Evaluation of NT-pro BNP and CT-ANP as markers of concentric hypertrophy in dogs with a model of compensated aortic stenosis. *J Vet Intern Med* 2008a; 22: 1118-23.
144. Hori Y, Ukai Y, Uechi M, Hoshi F, Higuchi S. Relationships between velocities of pulmonary venous flow and plasma concentrations of atrial natriuretic peptide in healthy dogs. *Am J Vet Res* 2008b; 69: 465-70.
145. Hori Y, Yamano S, Iwanaga K, Kano T, Tanabe M, Uechi M, Kanai K, Nakao R, Hoshi F, Higuchi S. Evaluation of plasma C-terminal atrial natriuretic peptide in healthy cats and cats with heart disease. *J Vet Intern Med* 2008c; 22: 135-9.
146. Horio T, Tokudome T, Maki T, Yoshihara F, Suga S, Nishikimi T, Kojima M, Kawano Y, Kangawa K. Gene expression, secretion, and autocrine action of C-type natriuretic peptide in cultured adult rat cardiac fibroblasts. *Endocrinology* 2003; 144: 2279-84.
147. Horwich TB, Hamilton MA, Fonarow GC. B-type natriuretic peptide levels in obese patients with advanced heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 85-90.
148. Hosoda K, Nakao K, Mukoyama M, Saito Y, Jougasaki M, Shirakami G, Suga S, Ogawa Y, Yasue H, Imura H. Expression of brain natriuretic peptide gene in human heart. Production in the ventricle. *Hypertension* 1991; 17: 1152-5.

149. Hsu A, Kittleson MD, Paling A. Investigation into the use of plasma NT-proBNP concentration to screen for feline hypertrophic cardiomyopathy. *J Vet Cardiol* 2009; 11 Suppl 1: S63-70.
150. Hunt PJ, Richards AM, Espiner EA, Nicholls MG, Yandle TG. Bioactivity and metabolism of C-type natriuretic peptide in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 1428-35.
151. Hutfless R, Kazanegra R, Madani M, Bhalla MA, Tulua-Tata A, Chen A, Clopton P, James C, Chiu A, Maisel AS. Utility of B-type natriuretic peptide in predicting postoperative complications and outcomes in patients undergoing heart surgery. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1873-9.
152. Hwang HJ, Son JW, Nam BH, Joung B, Lee B, Kim JB, Lee MH, Jang Y, Chung N, Shim WH, Cho SY, Kim SS. Incremental predictive value of pre-procedural N-terminal pro-B-type natriuretic peptide for short-term recurrence in atrial fibrillation ablation. *Clin Res Cardiol* 2009; 98: 213-8.
153. Igaki T, Itoh H, Suga SI, Hama N, Ogawa Y, Komatsu Y, Yamashita J, Doi K, Chun TH, Nakao K. Effects of intravenously administered C-type natriuretic peptide in humans: comparison with atrial natriuretic peptide. *Hypertens Res* 1998; 21: 7-13.
154. Iglesias J, Hom D, Antoniotti M, Ayoub S, Levine JS. Predictors of worsening renal function in adult patients with congestive heart failure receiving recombinant human B-type brain natriuretic peptide (nesiritide). *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 3458-65.
155. Inoue K, Takei Y. Molecular evolution of the natriuretic peptide system as revealed by comparative genomics. *Comp Biochem Physiol Part D* 2006; 1: 69-76.
156. Iwanaga Y, Nishi I, Furuichi S, Noguchi T, Sase K, Kihara Y, Goto Y, Nonogi H. B-type natriuretic peptide strongly reflects diastolic wall stress in patients with chronic heart failure: comparison between systolic and diastolic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 742-8.
157. Jacobs GJ, Calvert CA. Survival and Prognostic Factors in Doberman Pinschers with Congestive Heart Failure. *J Vet Intern Med* [abstract] 1995; 9: 203.
158. Januzzi JJJr, Camargo CA, Anwaruddin S, Baggish AL, Chen AA, Krauser DG, Tung R, Cameron R, Nagurney JT, Chae CU, Lloyd-Jones DM, Brown DF, Foran-Melanson S, Sluss PM, Lee-Lewandrowski E, Lewandrowski KB. The N-terminal Pro-BNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study. *Am J Cardiol* 2005; 95: 948-54.
159. Jarai R, Fellner B, Haoula D, Jordanova N, Heinz G, Karth GD, Huber K, Geppert A. Early assessment of outcome in cardiogenic shock: relevance of

plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and interleukin-6 levels. *Crit Care Med* 2009a; 37: 1837-44.

160. Jarai R, Kaun C, Weiss TW, Speidl WS, Rychli K, Maurer G, Huber K, Wojta J. Human cardiac fibroblasts express B-type natriuretic peptide. Fluvastatin ameliorates its upregulation by interleukin-1alpha, tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta. *J Cell Mol Med* 2009b: published online Feb 18 2009.

161. Jaubert J, Jaubert F, Martin N, Washburn LL, Lee BK, Eicher EM, Guenet JL. Three new allelic mouse mutations that cause skeletal overgrowth involve the natriuretic peptide receptor C gene (*Npr3*). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 10278-83.

162. Jefferies JL, Denfield SW, Price JF, Dreyer WJ, McMahon CJ, Grenier MA, Kim JJ, Dimas VV, Clunie SK, Moffett BS, Chang AC, Wann TI, Smith EO, Towbin JA. A prospective evaluation of nesiritide in the treatment of pediatric heart failure. *Pediatr Cardiol* 2006; 27: 402-7.

163. Jefferies JL, Price JF, Denfield SW, Chang AC, Dreyer WJ, McMahon CJ, Grenier MA, Clunie SK, Thomas A, Moffett BS, Wann TS, Smith EO, Towbin JA. Safety and efficacy of nesiritide in pediatric heart failure. *J Card Fail* 2007; 13: 541-8.

164. Jeong YH, Kim WJ, Park DW, Choi BR, Lee SW, Kim YH, Lee CW, Hong MK, Kim JJ, Park SW, Park SJ. Serum B-type natriuretic peptide on admission can predict the 'no-reflow' phenomenon after primary drug-eluting stent implantation for ST-segment elevation myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2009: published online 13 January 2009.

165. Johns DG, Ao Z, Heidrich BJ, Hunsberger GE, Graham T, Payne L, Elshourbagy N, Lu Q, Aiyar N, Douglas SA. Dendroaspis natriuretic peptide binds to the natriuretic peptide clearance receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 358: 145-9.

166. Jourdain P, Jondeau G, Funck F, Gueffet P, Le Helloco A, Donal E, Aupetit JF, Aumont MC, Galinier M, Eicher JC, Cohen-Solal A, Juilliere Y. Plasma brain natriuretic peptide-guided therapy to improve outcome in heart failure: the STARS-BNP Multicenter Study. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 1733-9.

167. Kaji Y, Miyoshi T, Doi M, Hirohata S, Kamikawa S, Sakane K, Kitawaki T, Kusachi S, Kusano KF, Ito H. Augmentation index is associated with B-type natriuretic peptide in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Hypertens Res* 2009; 32: 611-6.

168. Kangawa K, Fukuda A, Kubota I, Hayashi Y, Minamitake Y, Matsuo H. Human atrial natriuretic polypeptides (hANP): purification, structure synthesis and biological activity. *J Hypertens Suppl* 1984a; 2: 321-3.

169. Kangawa K, Matsuo H. Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP). *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 118: 131-9.
170. Kangawa K, Tawaragi Y, Oikawa S, Mizuno A, Sakuragawa Y, Nakazato H, Fukuda A, Minamino N, Matsuo H. Identification of rat gamma atrial natriuretic polypeptide and characterization of the cDNA encoding its precursor. *Nature* 1984b; 312: 152-5.
171. Kapoun AM, Liang F, O'Young G, Damm DL, Quon D, White RT, Munson K, Lam A, Schreiner GF, Protter AA. B-type natriuretic peptide exerts broad functional opposition to transforming growth factor-beta in primary human cardiac fibroblasts: fibrosis, myofibroblast conversion, proliferation, and inflammation. *Circ Res* 2004; 94: 453-61.
172. Karpaliotis D, Kirtane AJ, Ruisi CP, Polonsky T, Malhotra A, Talmor D, Kosmidou I, Jarolim P, de Lemos JA, Sabatine MS, Gibson CM, Morrow D. Diagnostic and prognostic utility of brain natriuretic Peptide in subjects admitted to the ICU with hypoxic respiratory failure due to noncardiogenic and cardiogenic pulmonary edema. *Chest* 2007; 131: 964-71.
173. Kashiwagi M, Katafuchi T, Kato A, Inuyama H, Ito T, Hagiwara H, Takei Y, Hirose S. Cloning and properties of a novel natriuretic peptide receptor, NPR-D. *Eur J Biochem* 1995; 233: 102-9.
174. Kawai K, Hata K, Takaoka H, Kawai H, Yokoyama M. Plasma brain natriuretic peptide as a novel therapeutic indicator in idiopathic dilated cardiomyopathy during beta-blocker therapy: a potential of hormone-guided treatment. *Am Heart J* 2001; 141: 925-32.
175. Kawakoshi A, Hyodo S, Inoue K, Kobayashi Y, Takei Y. Four natriuretic peptides (ANP, BNP, VNP and CNP) coexist in the sturgeon: identification of BNP in fish lineage. *J Mol Endocrinol* 2004; 32: 547-55.
176. Kellihan HB, Oyama MA, Reynolds CA, Stepien RL. Weekly variability of plasma and serum NT-proBNP measurements in normal dogs. *J Vet Cardiol* 2009; 11 Suppl 1: 93-7.
177. Kenny AJ, Bourne A, Ingram J. Hydrolysis of human and pig brain natriuretic peptides, urodilatin, C-type natriuretic peptide and some C-receptor ligands by endopeptidase-24.11. *Biochem J* 1993; 291: 83-8.
178. Khan SQ, Narayan H, Ng KH, Dhillon OS, Kelly D, Quinn P, Squire IB, Davies JE, Ng LL. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide complements the GRACE risk score in predicting early and late mortality following acute coronary syndrome. *Clin Sci (Lond)* 2009; 117: 31-9.
179. Khush KK, De Marco T, Vakharia KT, Harmon C, Fineman JR, Chatterjee K, Michaels AD. Nesiritide acutely increases pulmonary and systemic levels of

nitric oxide in patients with pulmonary hypertension. *J Card Fail* 2006; 12: 507-13.

180. Kittleson M, Kienle R. *Small Animal Cardiovascular Medicine*. 1 ed. St. Louis: Mosby; 1998.

181. Kittleson MM, Skojec DV, Wittstein IS, Champion HC, Judge DP, Barouch LA, Halushka M, Hare JM, Kasper EK, Russell SD. The change in B-type natriuretic peptide levels over time predicts significant rejection in cardiac transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2009; 28: 704-9.

182. Koch A, Zink S, Dittrich S. Plasma levels of B-type natriuretic peptide in children and adolescents with high degree atrioventricular block. *Int J Cardiol* 2009a; 134: 429-30.

183. Koch AM, Zink S, Glockler M, Seeliger T, Dittrich S. Plasma levels of B-type natriuretic peptide in patients with tetralogy of Fallot after surgical repair. *Int J Cardiol* 2009b.

184. Koie H, Kanayama K, Sakai T, Takeuchi A. Evaluation of diagnostic availability of continuous ANP assay and LA/AO ratio in left heart insufficient dogs. *J Vet Med Sci* 2001; 63: 1237-40.

185. Kojima M, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for rat brain natriuretic peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 159: 1420-6.

186. Krauser DG, Lloyd-Jones DM, Chae CU, Cameron R, Anwaruddin S, Baggish AL, Chen A, Tung R, Januzzi JL, Jr. Effect of body mass index on natriuretic peptide levels in patients with acute congestive heart failure: a ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) substudy. *Am Heart J* 2005; 149: 744-50.

187. Kubanek M, Goode KM, Lanska V, Clark AL, Cleland JG. The prognostic value of repeated measurement of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with chronic heart failure due to left ventricular systolic dysfunction. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 367-77.

188. Kuroda T, Seward JB, Rumberger JA, Yanagi H, Tajik AJ. Left ventricular volume and mass: Comparative study of two-dimensional echocardiography and ultrafast computed tomography. *Echocardiography* 1994; 11: 1-9.

189. Kwon TG, Bae JH, Jeong MH, Kim YJ, Hur SH, Seong IW, Cho MC, Seung KB, Jang YS, Park SJ. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide is associated with adverse short-term clinical outcomes in patients with acute ST-elevation myocardial infarction underwent primary percutaneous coronary intervention. *Int J Cardiol* 2009; 133: 173-8.

190. Lainchbury JG, Burnett JC, Jr., Meyer D, Redfield MM. Effects of natriuretic peptides on load and myocardial function in normal and heart failure dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278: H33-40.
191. Lalor SM, Connolly DJ, Elliott J, Syme HM. Plasma concentrations of natriuretic peptides in normal cats and normotensive and hypertensive cats with chronic kidney disease. *J Vet Cardiol* 2009; 11 Suppl 1: S71-9.
192. Lammers AE, Hislop AA, Haworth SG. Prognostic value of B-type natriuretic peptide in children with pulmonary hypertension. *Int J Cardiol* 2009; 135: 21-6.
193. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise J, Solomon S, Spencer KT, St John Sutton M, Stewart W. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr* 2006; 7: 79-108.
194. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18: 1440-63.
195. Lazar HL, Bao Y, Siwik D, Frame J, Mateo CS, Colucci WS. Nesiritide Enhances Myocardial Protection during the Revascularization of Acutely Ischemic Myocardium. *J Card Surg* 2009.
196. Leach S, Fine DM, Durham HE, Ganjam VK. Effect of Gender Status on NT-Prohormone Brain Natriuretic Peptide Levels in Dogs. *ACVIM Forum Proceedings*; 2008; San Antonio, Texas.
197. Lechner E, Wiesinger-Eidenberger G, Wagner O, Weissensteiner M, Schreier-Lechner E, Leibetseder D, Arzt W, Tulzer G. Amino terminal pro B-type natriuretic peptide levels are elevated in the cord blood of neonates with congenital heart defect. *Pediatr Res* 2009; 66: 466-9.
198. Lee CY, Burnett JC, Jr. Natriuretic peptides and therapeutic applications. *Heart Fail Rev* 2007; 12: 131-42.
199. Leitman DC, Murad F. Comparison of binding and cyclic GMP accumulation by atrial natriuretic peptides in endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1986; 885: 74-9.
200. Lermann BB, Stein KM, Markowitz SM, Mittal S, Iwai S. Ventricular Tachycardia in Patients with Structurally Normal Hearts. In: Zipes DP, Jalife J, editors. *Cardiac Electrophysiology from Cell to Bedside*. Philadelphia: Saunders; 2004: 668-82.

201. Letsas KP, Filippatos GS, Pappas LK, Mihas CC, Markou V, Alexanian IP, Efremidis M, Sideris A, Maisel AS, Kardaras F. Determinants of plasma NT-pro-BNP levels in patients with atrial fibrillation and preserved left ventricular ejection fraction. *Clin Res Cardiol* 2009; 98: 101-6.
202. Levenberg K. A Method for the Solution of Certain Problems in Least Squares. *Quart Appl Math* 1944; 2: 164-8.
203. Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 1998; 339: 321-8.
204. Lisy O, Jougasaki M, Heublein DM, Schirger JA, Chen HH, Wennberg PW, Burnett JC. Renal actions of synthetic dendroaspis natriuretic peptide. *Kidney Int* 1999; 56: 502-8.
205. Liu ZL, Wiedmeyer CE, Sisson DD, Solter PF. Cloning and characterization of feline brain natriuretic peptide. *Gene* 2002; 292: 183-90.
206. Logeart D, Saudubray C, Beyne P, Thabut G, Ennezat PV, Chavelas C, Zanker C, Bouvier E, Solal AC. Comparative value of Doppler echocardiography and B-type natriuretic peptide assay in the etiologic diagnosis of acute dyspnea. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 1794-800.
207. Lopez MJ, Wong SK, Kishimoto I, Dubois S, Mach V, Friesen J, Garbers DL, Beuve A. Salt-resistant hypertension in mice lacking the guanylyl cyclase-A receptor for atrial natriuretic peptide. *Nature* 1995; 378: 65-8.
208. Luchner A, Stevens TL, Borgeson DD, Redfield M, Wei CM, Porter JG, Burnett JC, Jr. Differential atrial and ventricular expression of myocardial BNP during evolution of heart failure. *Am J Physiol* 1998; 274: 1684-9.
209. Maack T. Receptors of atrial natriuretic factor. *Annu Rev Physiol* 1992; 54: 11-27.
210. MacDonald KA, Kittleson MD, Munro C, Kass P. Brain natriuretic peptide concentration in dogs with heart disease and congestive heart failure. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 172-7.
211. Maekawa K, Sudoh T, Furusawa M, Minamino N, Kangawa K, Ohkubo H, Nakanishi S, Matsuo H. Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for porcine brain natriuretic peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 157: 410-6.
212. Magert HJ, Appelhans H, Gassen HG, Forssmann WG. Nucleotide sequence of a porcine prepro atrial natriuretic peptide (ANP) cDNA. *Nucleic Acids Res* 1990; 18: 6704.

213. Maisel AS. B-type natriuretic peptide measurements in diagnosing congestive heart failure in the dyspneic emergency department patient. *Rev Cardiovasc Med* 2002; 3 Suppl 4: 10-7.
214. Maisel AS, Hollander JE, Guss D, McCullough P, Nowak R, Green G, Saltzberg M, Ellison SR, Bhalla MA, Bhalla V, Clopton P, Jesse R. Primary results of the Rapid Emergency Department Heart Failure Outpatient Trial (REDHOT). A multicenter study of B-type natriuretic peptide levels, emergency department decision making, and outcomes in patients presenting with shortness of breath. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1328-33.
215. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P, Omland T, Storrow AB, Abraham WT, Wu AH, Clopton P, Steg PG, Westheim A, Knudsen CW, Perez A, Kazanegra R, Herrmann HC, McCullough PA. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 161-7.
216. Maisel AS, McCord J, Nowak RM, Hollander JE, Wu AH, Duc P, Omland T, Storrow AB, Krishnaswamy P, Abraham WT, Clopton P, Steg G, Aumont MC, Westheim A, Knudsen CW, Perez A, Kamin R, Kazanegra R, Herrmann HC, McCullough PA. Bedside B-Type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure with reduced or preserved ejection fraction. Results from the Breathing Not Properly Multinational Study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 2010-7.
217. Maisel AS, Mueller C, Adams KJr, Anker SD, Aspromonte N, Cleland JG, Cohen-Solal A, Dahlstrom U, DeMaria A, Di Somma S, Filippatos GS, Fonarow GC, Jourdain P, Komajda M, Liu PP, McDonagh T, McDonald K, Mebazaa A, Nieminen MS, Peacock WF, Tubaro M, Valle R, Vanderhyden M, Yancy CW, Zannad F, Braunwald E. State of the art: using natriuretic peptide levels in clinical practice. *Eur J Heart Fail* 2008; 10: 824-39.
218. Manios EG, Kallergis EM, Kanoupakis EM, Mavrakis HE, Kambouraki DC, Arfanakis DA, Vardas PE. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide predicts ventricular arrhythmogenesis in patients with ischemic cardiomyopathy and implantable cardioverter-defibrillators. *Chest* 2005; 128: 2604-10.
219. Marin-Grez M, Fleming JT, Steinhausen M. Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilatation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature* 1986; 324: 473-6.
220. Mark DB, Felker GM. B-type natriuretic peptide - a biomarker for all seasons? *N Engl J Med* 2004; 350: 718-20.
221. Marquardt DW. An Algorithm for Least-Squares Estimation of Nonlinear Parameters. *SIAM J Appl Math* 1963; 11: 431-41.
222. Martinez-Rumayor A, Richards AM, Burnett JC, Januzzi JL, Jr. Biology of the natriuretic peptides. *Am J Cardiol* 2008; 101: 3-8.

223. Matsukawa N, Grzesik WJ, Takahashi N, Pandey KN, Pang S, Yamauchi M, Smithies O. The natriuretic peptide clearance receptor locally modulates the physiological effects of the natriuretic peptide system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 7403-8.
224. Matsuo K, Nishikimi T, Yutani C, Kurita T, Shimizu W, Taguchi A, Suyama K, Aihara N, Kamakura S, Kangawa K, Takamiya M, Shimomura K. Diagnostic value of plasma levels of brain natriuretic peptide in arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *Circulation* 1998; 98: 2433-40.
225. Mayer O, Jr., Simon J, Plaskova M, Cifkova R, Trefil L. N-terminal pro B-type natriuretic peptide as prognostic marker for mortality in coronary patients without clinically manifest heart failure. *Eur J Epidemiol* 2009; 24: 363-8.
226. McCullough PA, Duc P, Omland T, McCord J, Nowak RM, Hollander JE, Herrmann HC, Steg PG, Westheim A, Knudsen CW, Storrow AB, Abraham WT, Lamba S, Wu AH, Perez A, Clopton P, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Maisel AS. B-type natriuretic peptide and renal function in the diagnosis of heart failure: an analysis from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 571-9.
227. McCullough PA, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Herrmann HC, Steg PG, Duc P, Westheim A, Omland T, Knudsen CW, Storrow AB, Abraham WT, Lamba S, Wu AH, Perez A, Clopton P, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Maisel AS. B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation* 2002; 106: 416-22.
228. McCullough PA, Sandberg KR. B-type natriuretic peptide and renal disease. *Heart Fail Rev* 2003; 8: 355-8.
229. McLean AS, Huang SJ, Nalos M, Tang B, Stewart DE. The confounding effects of age, gender, serum creatinine, and electrolyte concentrations on plasma B-type natriuretic peptide concentrations in critically ill patients. *Crit Care Med* 2003a; 31: 2611-8.
230. McLean AS, Tang B, Nalos M, Huang SJ, Stewart DE. Increased B-type natriuretic peptide (BNP) level is a strong predictor for cardiac dysfunction in intensive care unit patients. *Anaesth Intensive Care* 2003b; 31: 21-7.
231. Mehra MR, Uber PA, Park MH, Scott RL, Ventura HO, Harris BC, Frohlich ED. Obesity and suppressed B-type natriuretic peptide levels in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1590-5.
232. Mekontso-Dessap A, de Prost N, Girou E, Braconnier F, Lemaire F, Brun-Buisson C, Brochard L. B-type natriuretic peptide and weaning from mechanical ventilation. *Intensive Care Med* 2006; 32: 1529-36.

233. Mentzer RM, Jr., Oz MC, Sladen RN, Graeve AH, Hebler RF, Jr., Lubber JM, Jr., Smedira NG. Effects of perioperative nesiritide in patients with left ventricular dysfunction undergoing cardiac surgery: the NAPA Trial. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 716-26.
234. Meurs KM. Canine dilated cardiomyopathy - recognition and clinical management. The 26th Annual Waltham/OSU Symposium: Small Animal Cardiology; 2002.
235. Meurs KM, Fox PR, Norgard M, Spier AW, Lamb A, Koplitz SL, Baumwart RD. A prospective genetic evaluation of familial dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 1016-20.
236. Meurs KM, Spier AW, Wright NA, Hamlin RL. Use of ambulatory electrocardiography for detection of ventricular premature complexes in healthy dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2001a; 218: 1291-2.
237. Meurs KM, Spier AW, Wright NA, Hamlin RL. Comparison of in-hospital versus 24-hour ambulatory electrocardiography for detection of ventricular premature complexes in mature Boxers. *J Am Vet Med Assoc* 2001b; 218: 222-4.
238. Michaels AD, Klein A, Madden JA, Chatterjee K. Effects of intravenous nesiritide on human coronary vasomotor regulation and myocardial oxygen uptake. *Circulation* 2003; 107: 2697-701.
239. Miller WL, Hartman KA, Burritt MF, Grill DE, Rodeheffer RJ, Burnett JC, Jr., Jaffe AS. Serial biomarker measurements in ambulatory patients with chronic heart failure: the importance of change over time. *Circulation* 2007; 116: 249-57.
240. Mills RM, LeJemtel TH, Horton DP, Liang C, Lang R, Silver MA, Lui C, Chatterjee K. Sustained hemodynamic effects of an infusion of nesiritide (human b-type natriuretic peptide) in heart failure: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. Natrecor Study Group. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 155-62.
241. Minamino N, Aburaya M, Ueda S, Kangawa K, Matsuo H. The presence of brain natriuretic peptide of 12,000 daltons in porcine heart. *Biochem Biophys Res Commun* 1988a; 155: 740-6.
242. Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. Isolation and identification of a high molecular weight brain natriuretic peptide in porcine cardiac atrium. *Biochem Biophys Res Commun* 1988b; 157: 402-9.
243. Mitaka C, Hirata Y, Habuka K, Narumi Y, Yokoyama K, Makita K, Imai T. Atrial natriuretic peptide infusion improves ischemic renal failure after suprarenal abdominal aortic cross-clamping in dogs. *Crit Care Med* 2003; 31: 2205-10.

244. Mitaka C, Kudo T, Jibiki M, Sugano N, Inoue Y, Makita K, Imai T. Effects of human atrial natriuretic peptide on renal function in patients undergoing abdominal aortic aneurysm repair. *Crit Care Med* 2008; 36: 745-51.
245. Moe GW, Howlett J, Januzzi JL, Zowall H. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide testing improves the management of patients with suspected acute heart failure: primary results of the Canadian prospective randomized multicenter IMPROVE-CHF study. *Circulation* 2007; 115: 3103-10.
246. Moesgaard SG, Falk T, Teerlink T, Guomundsdóttir HH, Siguroardóttir S, Rasmussen CE, Olsen LH. B-Type Natriuretic Peptide and Cyclic Guanosine Monophosphate Levels Increase Whereas Nitric Oxide Bioavailability Decreases with Increasing Degree of Myxomatous Mitral Valve Disease. *J Vet Intern Med* [abstract] 2009; 23: 705.
247. Moise NS. Chronic management of tachyarrhythmias in the dog. The 26th annual Waltham/OSU Symposium: Small Animal Cardiology; 2002.
248. Moise NS, Fox PR. Echocardiography and Doppler Imaging. In: Fox PR, Sisson DD, Moise NS, editors. *Textbook of Canine and Feline Cardiology: Principles and Clinical Practice*. Philadelphia: W. B. Saunders; 1999: 151-260.
249. Morita H, Hagiike M, Horiba T, Miyake K, Ohyama H, Yamanouchi H, Hosomi H, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. Effects of brain natriuretic peptide and C-type natriuretic peptide infusion on urine flow and jejunal absorption in anesthetized dogs. *Jpn J Physiol* 1992; 42: 349-53.
250. Morris N, Oyama MA, O'Sullivan ML, Singletary GE, Gordon SG. Utility of NT-proBNP Assay to Detect Occult Dilated Cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *J Vet Intern Med* [abstract] 2009; 23: 686.
251. Mueller C, Scholer A, Laule-Kilian K, Martina B, Schindler C, Buser P, Pfisterer M, Perruchoud AP. Use of B-type natriuretic peptide in the evaluation and management of acute dyspnea. *N Engl J Med* 2004; 350: 647-54.
252. Mueller T, Dieplinger B, Poelz W, Endler G, Wagner OF, Haltmayer M. Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide as predictor of mortality in patients with symptomatic peripheral arterial disease: 5-year follow-up data from the Linz Peripheral Arterial Disease Study. *Clin Chem* 2009; 55: 68-77.
253. Nakagawa O, Ogawa Y, Itoh H, Suga S, Komatsu Y, Kishimoto I, Nishino K, Yoshimasa T, Nakao K. Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy. Evidence for brain natriuretic peptide as an "emergency" cardiac hormone against ventricular overload. *J Clin Invest* 1995; 96: 1280-7.
254. Nakayama K, Ohkubo H, Hirose T, Inayama S, Nakanishi S. mRNA sequence for human cardiodilatin-atrial natriuretic factor precursor and regulation of precursor mRNA in rat atria. *Nature* 1984; 310: 699-701.

255. Nguyen TT, Lazure C, Babinski K, Chretien M, De Lean A, Ong H. Purification and primary structure of pro-aldosterone secretion inhibitory factor from bovine adrenal chromaffin cells. *Mol Endocrinol* 1989a; 3: 1823-9.
256. Nguyen TT, Lazure C, Babinski K, Chretien M, Ong H, De Lean A. Aldosterone secretion inhibitory factor: a novel neuropeptide in bovine chromaffin cells. *Endocrinology* 1989b; 124: 1591-3.
257. Niederkofler EE, Urban AK, O'Rear J, Menon S, Saghir S, Protter AA, Nelson RW, Schellenberger U. Detection of Endogenous B-Type Natriuretic Peptide at Very Low Concentrations in Patients With Heart Failure Circulation: Heart Failure 2008; 1: 258-64.
258. Nishida Y, Morita H, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H, Hosomi H. Effects of brain natriuretic peptide on hemodynamics and renal function in dogs. *Jpn J Physiol* 1990; 40: 531-40.
259. Nohria A, Givertz MM. B-type natriuretic peptide and the stressed heart. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 749-51.
260. Norman JF, Pozehl BJ, Duncan KA, Hertzog MA, Elokda AS, Krueger SK. Relationship of Resting B-type Natriuretic Peptide Level to Cardiac Work and Total Physical Work Capacity in Heart Failure Patients. *J Cardiopulm Rehabil Prev* 2009; 29: 310-3.
261. Nozohoor S, Nilsson J, Luhrs C, Roijer A, Algotsson L, Sjogren J. B-type natriuretic peptide as a predictor of postoperative heart failure after aortic valve replacement. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009; 23: 161-5.
262. O'Dell KM, Kalus JS, Kucukarslan S, Czarska B. Nesiritide for secondary pulmonary hypertension in patients with end-stage heart failure. *Am J Health Syst Pharm* 2005; 62: 606-9.
263. O'Grady M, Horne R, Gordon SG. Does angiotensin converting enzyme inhibitor therapy delay the onset of congestive heart failure or sudden death in Doberman pinschers with occult dilated cardiomyopathy? *J Vet Intern Med* [abstract] 1997; 11: 138.
264. O'Grady MR. Outcome of 103 asymptomatic Doberman pinschers: incidence of dilated cardiomyopathy in a longitudinal study. *J Vet Intern Med* [abstract] 1995a; 9: 199.
265. O'Grady MR. Echocardiographic findings in 51 normal Doberman pinschers. *J Vet Intern Med* [abstract] 1995b; 9: 202.
266. O'Grady MR. DCM in Doberman Pinschers: Lessons learned in the first decade of study. *ACVIM Forum Proceedings*; 2002; Denver, Colorado.

267. O'Grady MR, Horne R. The prevalence of dilated cardiomyopathy in Doberman pinschers
ACVIM Forum Proceedings; 1998; San Diego, California.
268. O'Grady MR, Minors SL, O'Sullivan ML, Horne R. Effect of pimobendan on case fatality rate in Doberman Pinschers with congestive heart failure caused by dilated cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 897-904.
269. O'Grady MR, O'Sullivan ML. Dilated cardiomyopathy: an update. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2004; 34: 1187-207.
270. O'Grady MR, O'Sullivan ML, Minors SL, Horne R. Efficacy of benazepril hydrochloride to delay the progression of occult dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 977-83.
271. O'Hanlon R, O'Shea P, Ledwidge M, O'Loughlin C, Lange S, Conlon C, Phelan D, Cunningham S, McDonald K. The biologic variability of B-type natriuretic peptide and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in stable heart failure patients. *J Card Fail* 2007; 13: 50-5.
272. O'Sullivan ML, O'Grady MR, Minors SL. Assessment of diastolic function by Doppler echocardiography in normal Doberman Pinschers and Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* 2007a; 21: 81-91.
273. O'Sullivan ML, O'Grady MR, Minors SL. Plasma big endothelin-1, atrial natriuretic peptide, aldosterone, and norepinephrine concentrations in normal Doberman Pinschers and Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* 2007b; 21: 92-9.
274. O'Sullivan ML, O'Grady MR, Minors SL, Kean KMT, Horne R. Occult dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher, a retrospective study of prognosis in 163 cases. *J Vet Intern Med* [abstract] 2005; 19: 406.
275. Ogawa Y, Itoh H, Tamura N, Suga S, Yoshimasa T, Uehira M, Matsuda S, Shiono S, Nishimoto H, Nakao K. Molecular cloning of the complementary DNA and gene that encode mouse brain natriuretic peptide and generation of transgenic mice that overexpress the brain natriuretic peptide gene. *J Clin Invest* 1994; 93: 1911-21.
276. Oikawa S, Imai M, Inuzuka C, Tawaragi Y, Nakazato H, Matsuo H. Structure of dog and rabbit precursors of atrial natriuretic polypeptides deduced from nucleotide sequence of cloned cDNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 132: 892-9.
277. Oikawa S, Imai M, Ueno A, Tanaka S, Noguchi T, Nakazato H, Kangawa K, Fukuda A, Matsuo H. Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human atrial natriuretic polypeptide. *Nature* 1984; 309: 724-6.

278. Olsson LG, Swedberg K, Cleland JG, Spark PA, Komajda M, Metra M, Torp-Pedersen C, Remme WJ, Scherhag A, Poole-Wilson P. Prognostic importance of plasma NT-pro BNP in chronic heart failure in patients treated with a beta-blocker: results from the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET) trial. *Eur J Heart Fail* 2007; 9: 795-801.
279. Oscarsson A, Fredrikson M, Sorliden M, Anskar S, Eintrei C. N-terminal fragment of pro-B-type natriuretic peptide is a predictor of cardiac events in high-risk patients undergoing acute hip fracture surgery. *Br J Anaesth* 2009; 103: 206-12.
280. Oyama MA, Fox PR, Rush JE, Rozanski EA, Lesser M. Clinical utility of serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration for identifying cardiac disease in dogs and assessing disease severity. *J Am Vet Med Assoc* 2008a; 232: 1496-503.
281. Oyama MA, Rush JE, Rozanski EA, Fox PR, Reynolds CA, Gordon SG, Bulmer BJ, Lefbom BK, Brown WA, Lehmkühl LB, Prosek R, Lesser M, Kraus M, Bossbaly M, Rapoport GS. NT-pro-BNP Assay Distinguishes Cardiac vs Primary Respiratory Causes of Respiratory Signs in Dogs. *J Vet Intern Med* [abstract] 2008b; 22: 719.
282. Oyama MA, Sisson DD, Solter PF. Prospective screening for occult cardiomyopathy in dogs by measurement of plasma atrial natriuretic peptide, B-type natriuretic peptide, and cardiac troponin-I concentrations. *Am J Vet Res* 2007; 68: 42-7.
283. Pandey KN. Biology of natriuretic peptides and their receptors. *Peptides* 2005; 26: 901-32.
284. Pfister R, Diedrichs H, Larbig R, Erdmann E, Schneider CA. NT-pro-BNP for differential diagnosis in patients with syncope. *Int J Cardiol* 2009; 133: 51-4.
285. Pfisterer M, Buser P, Rickli H, Gutmann M, Erne P, Rickenbacher P, Vuillomenet A, Jeker U, Dubach P, Beer H, Yoon SI, Suter T, Osterhues HH, Schieber MM, Hilti P, Schindler R, Brunner-La Rocca HP. BNP-guided vs symptom-guided heart failure therapy: the Trial of Intensified vs Standard Medical Therapy in Elderly Patients With Congestive Heart Failure (TIME-CHF) randomized trial. *JAMA* 2009; 301: 383-92.
286. Phua J, Lim TK, Lee KH. B-type natriuretic peptide: issues for the intensivist and pulmonologist. *Crit Care Med* 2005; 33: 2094-13.
287. Piantedosi D, Cortese L, Di Loria A, Brignola G, Prisco M, Persechino A, Ciaramella P. Plasma atrial natriuretic peptide (proANP 31-67), B-type natriuretic peptide (Nt-proBNP) and endothelin-1 (ET-1) concentrations in dogs with chronic degenerative valvular disease (CDVD). *Vet Res Commun* 2009; 33 Suppl 1: 197-200.

288. Piao FL, Park SH, Han JH, Cao C, Kim SZ, Kim SH. Dendroaspis natriuretic peptide and its functions in pig ovarian granulosa cells. *Regul Pept* 2004; 118: 193-8.
289. Potocki M, Breidhardt T, Reichlin T, Hartwiger S, Morgenthaler NG, Bergmann A, Noveanu M, Freidank H, Taegtmeier AB, Wetzel K, Boldanova T, Stelzig C, Bingisser R, Christ M, Mueller C. Comparison of midregional pro-atrial natriuretic peptide with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure. *J Intern Med* 2009.
290. Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr Rev* 2006; 27: 47-72.
291. Prosek R, Sisson DD, Oyama MA, Solter PF. Distinguishing cardiac and noncardiac dyspnea in 48 dogs using plasma atrial natriuretic factor, B-type natriuretic factor, endothelin, and cardiac troponin-I. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 238-42.
292. Raffan E, Loureiro J, Dukes-McEwan J, Fonfara S, James R, Swift S, Bexfield N, Herrtage ME, Archer J. The Cardiac Biomarker NT-proBNP Is Increased in Dogs with Azotemia. *J Vet Intern Med* 2009: published online Aug 26 2009.
293. Richards AM, Doughty R, Nicholls MG, Macmahon S, Ikram H, Sharpe N, Espiner EA, Frampton C, Yandle TG. Neurohumoral prediction of benefit from carvedilol in ischemic left ventricular dysfunction. Australia-New Zealand Heart Failure Group. *Circulation* 1999; 99: 786-92.
294. Richards AM, Nicholls MG, Espiner EA, Lainchbury JG, Troughton RW, Elliott J, Frampton C, Turner J, Crozier IG, Yandle TG. B-type natriuretic peptides and ejection fraction for prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 2003; 107: 2786-92.
295. Richter R, Magert H, Mifune H, Schulz-Knappe P, Forssmann W. Equine cardiodilatin/ atrial natriuretic peptide. Primary structure and immunohistochemical localization in auricular cardiocytes. *Acta Anat (Basel)* 1998; 162: 185-93.
296. Rose RA, Giles WR. Natriuretic peptide C receptor signalling in the heart and vasculature. *J Physiol* 2008; 586: 353-66.
297. Sackner-Bernstein JD, Skopicki HA, Aaronson KD. Risk of worsening renal function with nesiritide in patients with acutely decompensated heart failure. *Circulation* 2005; 111: 1487-91.
298. Saito Y, Nakao K, Arai H, Nishimura K, Okumura K, Obata K, Takemura G, Fujiwara H, Sugawara A, Yamada T, et al. Augmented expression of atrial

natriuretic polypeptide gene in ventricle of human failing heart. *J Clin Invest* 1989; 83: 298-305.

299. Sandhu S, Har BJ, Aggarwal SG, Kavanagh KM, Ramadan D, Exner DV. Predictive value of repeated versus single N-terminal pro B-type natriuretic peptide measurements early after-myocardial infarction. *Pacing Clin Electrophysiol* 2009; 32 Suppl 1: 86-9.

300. Sarzani R, Dessi-Fulgheri P, Paci VM, Espinosa E, Rappelli A. Expression of natriuretic peptide receptors in human adipose and other tissues. *J Endocrinol Invest* 1996; 19: 581-5.

301. Saunders AB, Gordon SG, Miller MW, Achen SE, Roland RM, Drouff LT, Hariu CD, Oyama MA. NT-proBNP Concentrations in Canine Congenital Heart Disease. *J Vet Intern Med [abstract]* 2009; 23: 686.

302. Schellenberg S, Grenacher B, Kaufmann K, Reusch CE, Glaus TM. Analytical validation of commercial immunoassays for the measurement of cardiovascular peptides in the dog. *Vet J* 2008; 178: 85-90.

303. Schirger JA, Heublein DM, Chen HH, Lisy O, Jougasaki M, Wennberg PW, Burnett JC, Jr. Presence of Dendroaspis natriuretic peptide-like immunoreactivity in human plasma and its increase during human heart failure. *Mayo Clin Proc* 1999; 74: 126-30.

304. Schmidt MK, Reynolds CA, Estrada AH, Prosek R, Maisenbacher HW, Sleeper MM, Oyama MA. Effect of Renal Dysfunction on N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide; A Canine Biomarker for Heart Disease. *J Vet Intern Med [abstract]* 2008; 22: 717.

305. Schmidt MK, Reynolds CA, Estrada AH, Prosek R, Maisenbacher HW, Sleeper MM, Oyama MA. Effect of azotemia on serum N-terminal proBNP concentration in dogs with normal cardiac function: a pilot study. *J Vet Cardiol* 2009; 11 Suppl 1: S81-6.

306. Schober KE, Baade H. Comparability of left ventricular M-mode echocardiography in dogs performed in long-axis and short-axis. *Vet Radiol Ultrasound* 2000; 41: 543-9.

307. Schouten O, Hoeks SE, Goei D, Bax JJ, Verhagen HJ, Poldermans D. Plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as a predictor of perioperative and long-term outcome after vascular surgery. *J Vasc Surg* 2009; 49: 435-41; discussion 41-2.

308. Schultz HD, Gardner DG, Deschepper CF, Coleridge HM, Coleridge JC. Vagal C-fiber blockade abolishes sympathetic inhibition by atrial natriuretic factor. *Am J Physiol* 1988; 255: 6-13.

309. Schulz-Knappe P, Forssmann K, Herbst F, Hock D, Pipkorn R, Forssmann WG. Isolation and structural analysis of "urodilatin", a new peptide of the cardiodilatin-(ANP)-family, extracted from human urine. *Klin Wochenschr* 1988; 66: 752-9.
310. Schweitz H, Vigne P, Moinier D, Frelin C, Lazdunski M. A new member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*). *J Biol Chem* 1992; 267: 13928-32.
311. Scirica BM, Cannon CP, Sabatine MS, Jarolim P, Sloane S, Rifai N, Braunwald E, Morrow DA. Concentrations of C-reactive protein and B-type natriuretic peptide 30 days after acute coronary syndromes independently predict hospitalization for heart failure and cardiovascular death. *Clin Chem* 2009; 55: 265-73.
312. Serres F, Pouchelon JL, Poujol L, Lefebvre HP, Trumel C, Daste T, Sampedrano CC, Gouni V, Tissier R, Hawa G, Chetboul V. Plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration helps to predict survival in dogs with symptomatic degenerative mitral valve disease regardless of and in combination with the initial clinical status at admission. *J Vet Cardiol* 2009: published online 21 October 2009.
313. Shah MR, Claise KA, Bowers MT, Bhapkar M, Little J, Nohria A, Gauden LH, McKee VK, Cozart KL, Mancinelli KL, Daniels H, Kinard T, Stevenson LW, Mancini DM, O'Connor CM, Califf RM. Testing new targets of therapy in advanced heart failure: the design and rationale of the Strategies for Tailoring Advanced Heart Failure Regimens in the Outpatient Setting: BRain Natriuretic Peptide Versus the Clinical Congestion Score (STARBRITE) trial. *Am Heart J* 2005; 150: 893-8.
314. Shipley EA, Saunders AB, Gordon SG, Roland RM, Drourr LT, Achen SE, Miller MW. NT-pro BNP in Dogs with Atrial Fibrillation. *ACVIM Forum Proceedings*; 2008; San Antonio, Texas.
315. Silver MA, Horton DP, Ghali JK, Elkayam U. Effect of nesiritide versus dobutamine on short-term outcomes in the treatment of patients with acutely decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 798-803.
316. Simak J. Evaluierung echokardiographischer Methoden zur Diagnose der dilatativen Kardiomyopathie beim Dobermann [Hochschulschrift, Dissertation]. München: Ludwig-Maximilians-Universität; 2008.
317. Simon T, Becker R, Voss F, Bikou O, Hauck M, Licka M, Katus HA, Bauer A. Elevated B-type natriuretic peptide levels in patients with nonischemic cardiomyopathy predict occurrence of arrhythmic events. *Clin Res Cardiol* 2008; 97: 306-9.
318. Singh G, Kuc RE, Maguire JJ, Fidock M, Davenport AP. Novel snake venom ligand dendroaspis natriuretic peptide is selective for natriuretic peptide receptor-

A in human heart: downregulation of natriuretic peptide receptor-A in heart failure. *Circ Res* 2006; 99: 183-90.

319. Sisson DD. Plasma levels of ANP, BNP, epinephrine, norepinephrine, serum aldosterone, and plasma renin activity in healthy cats and cats with myocardial disease. *J Vet Intern Med* [abstract] 2003; 17: 438.

320. Sisson DD. B-type natriuretic peptides. *J Vet Cardiol* 2009; 11 Suppl 1: 5-7.

321. Smith MW, Espiner EA, Yandle TG, Charles CJ, Richards AM. Delayed metabolism of human brain natriuretic peptide reflects resistance to neutral endopeptidase. *J Endocrinol* 2000; 167: 239-46.

322. Stein BC, Levin RI. Natriuretic peptides: physiology, therapeutic potential, and risk stratification in ischemic heart disease. *Am Heart J* 1998; 135: 914-23.

323. Styron JF, Jois-Bilowich P, Tallman T, Emerman C, Starling RC, Frank Peacock W. Outcomes associated with Nesiritide administration for acute decompensated heart failure in the emergency department observation unit: a single center experience. *Congest Heart Fail* 2009; 15: 103-7.

324. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988; 332: 78-81.

325. Sward K, Valsson F, Odencrants P, Samuelsson O, Ricksten SE. Recombinant human atrial natriuretic peptide in ischemic acute renal failure: a randomized placebo-controlled trial. *Crit Care Med* 2004; 32: 1310-5.

326. Takahashi T, Nakamura M, Onoda T, Ohsawa M, Tanno K, Itai K, Sakata K, Sakuma M, Tanaka F, Makita S, Yoshida Y, Ogawa A, Kawamura K, Okayama A. Predictive value of plasma B-type natriuretic peptide for ischemic stroke: A community-based longitudinal study. *Atherosclerosis* 2009: published online 4 May 2009.

327. Takeda Y, Suzuki S, Kimura G. Within-person variation of the plasma concentration of B-type natriuretic peptide: safety range in stable patients with heart failure. *Am Heart J* 2009; 157: 97-101.

328. Takei Y, Hirose S. The natriuretic peptide system in eels: a key endocrine system for euryhalinity? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 282: 940-51.

329. Takei Y, Ogoshi M, Inoue K. A 'reverse' phylogenetic approach for identification of novel osmoregulatory and cardiovascular hormones in vertebrates. *Front Neuroendocrinol* 2007; 28: 143-60.

330. Takei Y, Takahashi A, Watanabe TX, Nakajima K, Sakakibara S. A novel natriuretic peptide isolated from eel cardiac ventricles. *FEBS Lett* 1991; 282: 317-20.
331. Takemura N, Koyama H, Sako T, Ando K, Motoyoshi S, Marumo F. Bovine atrial natriuretic peptide in heart failure. *J Endocrinol* 1990; 124: 463-7.
332. Takemura N, Koyama H, Sako T, Ando K, Motoyoshi S, Marumo F. Plasma atrial natriuretic peptide (ANP) in dogs with mild heartworm infection. *J Vet Med Sci* 1991a; 53: 323-5.
333. Takemura N, Koyama H, Sako T, Ando K, Suzuki K, Motoyoshi S, Marumo F. Atrial natriuretic peptide in the dog with mitral regurgitation. *Res Vet Sci* 1991b; 50: 86-8.
334. Tamm NN, Seferian KR, Semenov AG, Mukharyamova KS, Koshkina EV, Krasnoselsky MI, Postnikov AB, Serebryanaya DV, Apple FS, Murakami MM, Katrukha AG. Novel immunoassay for quantification of brain natriuretic peptide and its precursor in human blood. *Clin Chem* 2008; 54: 1511-8.
335. Tamura N, Doolittle LK, Hammer RE, Shelton JM, Richardson JA, Garbers DL. Critical roles of the guanylyl cyclase B receptor in endochondral ossification and development of female reproductive organs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 17300-5.
336. Tarnow I, Olsen LH, Kwart C, Hoglund K, Moesgaard SG, Kamstrup TS, Pedersen HD, Haggstrom J. Predictive value of natriuretic peptides in dogs with mitral valve disease. *Vet J* 2009; 180: 195-201.
337. Taylor JA, Christenson RH, Rao K, Jorge M, Gottlieb SS. B-type natriuretic peptide and N-terminal pro B-type natriuretic peptide are depressed in obesity despite higher left ventricular end diastolic pressures. *Am Heart J* 2006; 152: 1071-6.
338. Thomas WP, Gaber CE, Jacobs GJ, Kaplan PM, Lombard CW, Moise NS, Moses BL. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. Echocardiography Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine. *J Vet Intern Med* 1993; 7: 247-52.
339. Tidholm A, Haggstrom J, Hansson K. Effects of dilated cardiomyopathy on the renin-angiotensin-aldosterone system, atrial natriuretic peptide activity, and thyroid hormone concentrations in dogs. *Am J Vet Res* 2001; 62: 961-7.
340. Tidholm A, Jonsson L. A retrospective study of canine dilated cardiomyopathy (189 cases). *J Am Anim Hosp Assoc* 1997; 33: 544-50.

341. Tidholm A, Jonsson L. Histologic characterization of canine dilated cardiomyopathy. *Vet Pathol* 2005; 42: 1-8.
342. Tietgen K. Bestimmung von "Brain Natriuretic Peptide"(BNP) bei gesunden Hunden [Hochschulschrift, Dissertation]. München: Ludwig-Maximilians-Universität; 2004.
343. Tigen K, Karaahmet T, Tanalp AC, Gurel E, Cevik C, Mutlu B, Basaran Y. Value of clinical, electrocardiographic, echocardiographic and neurohumoral parameters in non-ischaemic dilated cardiomyopathy. *Acta Cardiol* 2008; 63: 207-12.
344. Tong AT, Rozner MA. The role of nesiritide in heart failure. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009; 5: 823-34.
345. Troughton RW, Frampton CM, Yandle TG, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM. Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet* 2000; 355: 1126-30.
346. Tsukada T, Takei Y. Relative potency of three homologous natriuretic peptides (ANP, CNP and VNP) in eel osmoregulation. *Zoolog Sci* 2001; 18: 1253-8.
347. Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Hisanaga T, Mabuchi N, Hayashi M, Ohnishi M, Sawaki M, Fujii M, Horie H, Sugimoto Y, Kinoshita M. Plasma brain natriuretic peptide level as a biochemical marker of morbidity and mortality in patients with asymptomatic or minimally symptomatic left ventricular dysfunction. Comparison with plasma angiotensin II and endothelin-1. *Eur Heart J* 1999; 20: 1799-807.
348. Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Mabuchi N, Hayashi M, Tsutsui T, Ohnishi M, Sawaki M, Fujii M, Matsumoto T, Matsui T, Kinoshita M. Effect of spironolactone on plasma brain natriuretic peptide and left ventricular remodeling in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1228-33.
349. Tung RH, Garcia C, Morss AM, Pino RM, Fifer MA, Thompson BT, Lewandrowski K, Lee-Lewandrowski E, Januzzi JL. Utility of B-type natriuretic peptide for the evaluation of intensive care unit shock. *Crit Care Med* 2004; 32: 1643-7.
350. Van der Zander K, Houben AJ, Kroon AA, De Mey JG, Smits PA, de Leeuw PW. Nitric oxide and potassium channels are involved in brain natriuretic peptide induced vasodilatation in man. *J Hypertens* 2002; 20: 493-9.
351. Vlasuk GP, Miller J, Bencen GH, Lewicki JA. Structure and analysis of the bovine atrial natriuretic peptide precursor gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; 136: 396-403.

352. Vollmar AM. Immunoreactive N-terminal fragment of proatrial natriuretic peptide, ANP (1-98), in plasma of healthy dogs and dogs with impaired volume regulation: a comparison with the C-terminal ANP (99-126). *Res Vet Sci* 1991; 50: 264-8.
353. Vollmar AM, Montag C, Preusser U, Kraft W, Schulz R. Atrial natriuretic peptide and plasma volume of dogs suffering from heart failure or dehydration. *Zentralbl Veterinarmed A* 1994; 41: 548-57.
354. Vollmar AM, Reusch C, Kraft W, Schulz R. Atrial natriuretic peptide concentration in dogs with congestive heart failure, chronic renal failure, and hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res* 1991; 52: 1831-4.
355. Wada A, Tsutamoto T, Matsuda Y, Kinoshita M. Cardiorenal and neurohumoral effects of endogenous atrial natriuretic peptide in dogs with severe congestive heart failure using a specific antagonist for guanylate cyclase-coupled receptors. *Circulation* 1994; 89: 2232-40.
356. Walther T, Stepan H. C-type natriuretic peptide in reproduction, pregnancy and fetal development. *J Endocrinol* 2004; 180: 17-22.
357. Wang DJ, Dowling TC, Meadows D, Ayala T, Marshall J, Minshall S, Greenberg N, Thattassery E, Fisher ML, Rao K, Gottlieb SS. Nesiritide does not improve renal function in patients with chronic heart failure and worsening serum creatinine. *Circulation* 2004a; 110: 1620-5.
358. Wang R, Li X, Jang W, Liu Z, Yang X, Xiao C, Shao L, Zhu J. Blood B-type natriuretic peptide changes in different periods and different cardiac pacing modes. *Int Heart J* 2005; 46: 1015-22.
359. Wang RX, Guo T, Li XR. BNP/NT-proBNP and cardiac pacing: a review. *Pacing Clin Electrophysiol* 2009; 32: 794-9.
360. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Wilson PW, Vasan RS. Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels. *Circulation* 2004b; 109: 594-600.
361. Wedel H, McMurray JJ, Lindberg M, Wikstrand J, Cleland JG, Cornel JH, Dunselman P, Hjalmarson A, Kjekshus J, Komajda M, Kuusi T, Vanhaecke J, Waagstein F. Predictors of fatal and non-fatal outcomes in the Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure (CORONA): incremental value of apolipoprotein A-1, high-sensitivity C-reactive peptide and N-terminal pro B-type natriuretic peptide. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 281-91.
362. Wei CM, Aarhus LL, Miller VM, Burnett JC, Jr. Action of C-type natriuretic peptide in isolated canine arteries and veins. *Am J Physiol* 1993a; 264: 71-3.

363. Wei CM, Heublein DM, Perrella MA, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Edwards WD, Schaff HV, Burnett JC, Jr. Natriuretic peptide system in human heart failure. *Circulation* 1993b; 88: 1004-9.
364. Wennberg PW, Miller VM, Rabelink T, Burnett JC, Jr. Further attenuation of endothelium-dependent relaxation imparted by natriuretic peptide receptor antagonism. *Am J Physiol* 1999; 277: 1618-21.
365. Wess G, Daisenberger P, Hirschberger J. The Utility of NT-proBNP to Differentiate Cardiac and Respiratory Causes of Dyspnea in Cats. *J Vet Intern Med [abstract]* 2008; 22: 707.
366. Wess G, Daisenberger P, Hirschberger J, Hartmann K. The Utility of NT-proBNP to Detect Early Stages of Hypertrophic Cardiomyopathy in Cats and to Differentiate Disease Stage. *J Vet Intern Med [abstract]* 2009a; 23: 687.
367. Wess G, Schulze A, Butz V, Hartmann K. Prevalence of Dilated Cardiomyopathy in doberman Pinschers of various Age Groups. *ECVIM Forum Proceedings*; 2009b; Porto.
368. Wess G, Timper N, Hirschberger J. The Utility of NT-proBNP to Differentiate Cardiac and Respiratory Causes of Coughing or Dyspnea in Dogs. *J Vet Intern Med [abstract]* 2007; 21: 608.
369. Willis MS, Lee ES, Grenache DG. Effect of anemia on plasma concentrations of NT-proBNP. *Clin Chim Acta* 2005; 358: 175-81.
370. Witteles RM, Kao D, Christopherson D, Matsuda K, Vagelos RH, Schreiber D, Fowler MB. Impact of nesiritide on renal function in patients with acute decompensated heart failure and pre-existing renal dysfunction a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 1835-40.
371. Wolberg J. *Data Analysis Using the Method of Least Squares: Extracting the Most Information from Experiments*. Springer, 2005.
372. Wold Knudsen C, Vik-Mo H, Omland T. Blood haemoglobin is an independent predictor of B-type natriuretic peptide (BNP). *Clin Sci (Lond)* 2005; 109: 69-74.
373. Wu AH. Serial testing of B-type natriuretic peptide and NTpro-BNP for monitoring therapy of heart failure: the role of biologic variation in the interpretation of results. *Am Heart J* 2006; 152: 828-34.
374. Yamamoto H, Uechi M, Ebisawa T, Sakamoto Y, Harada K, Asano K, Mizugoshi T, Mizuno T, Mizuno M, Yamano S. Evaluation of Cardiac Loading Conditions by Plasma ANP and NT-pro-BNP After Mitral Valve Plasty in Dogs. *ACVIM Forum Proceedings*; 2008; San Antonio, Texas.

375. Yamamoto K, Burnett JC, Jr., Jougasaki M, Nishimura RA, Bailey KR, Saito Y, Nakao K, Redfield MM. Superiority of brain natriuretic peptide as a hormonal marker of ventricular systolic and diastolic dysfunction and ventricular hypertrophy. *Hypertension* 1996; 28: 988-94.
376. Yamamoto K, Burnett JC, Jr., Redfield MM. Effect of endogenous natriuretic peptide system on ventricular and coronary function in failing heart. *Am J Physiol* 1997; 273: 2406-14.
377. Yoshimura M, Mizuno Y, Nakayama M, Sakamoto T, Sugiyama S, Kawano H, Soejima H, Hirai N, Saito Y, Nakao K, Yasue H, Ogawa H. B-type natriuretic peptide as a marker of the effects of enalapril in patients with heart failure. *Am J Med* 2002; 112: 716-20.
378. Yoshimura M, Yasue H, Okumura K, Ogawa H, Jougasaki M, Mukoyama M, Nakao K, Imura H. Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *Circulation* 1993; 87: 464-9.
379. Yu H, Oswald H, Gardiwal A, Lissel C, Klein G. Comparison of N-terminal pro-brain natriuretic peptide versus electrophysiologic study for predicting future outcomes in patients with an implantable cardioverter defibrillator after myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2007; 100: 635-9.
380. Yukimura T, Ito K, Takenaga T, Yamamoto K, Kangawa K, Matsuo H. Renal effects of a synthetic alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP) in anesthetized dogs. *Eur J Pharmacol* 1984; 103: 363-6.
381. Zeidel ML. Regulation of collecting duct Na⁺ reabsorption by ANP 31-67. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995; 22: 121-4.
382. Zieba M, Beardow A, Carpenter C, Farace G, Yeung K, Ettinger SJ, Forney S. Analytical Validation of a Commercially Available Canine N-Terminal Prohormone Brain Natriuretic Peptide Elisa. *ACVIM Forum Proceedings*; 2008; San Antonio, Texas.

IX. ANHANG**Tabelle 1:** Die 20 kanonischen Aminosäuren mit zugehörigem Drei- und Einbuchstabencode.

Aminosäure	Dreibuchstabencode	Einbuchstabencode
Alanin	Ala	A
Arginin	Arg	R
Asparagin	Asn	N
Aparaginsäure	Asp	D
Cystein	Cys	C
Glutamin	Gln	Q
Glutaminsäure	Glu	E
Glycin	Gly	G
Histidin	His	H
Isoleucin	Ile	I
Leucin	Leu	L
Lysin	Lys	K
Methionin	Met	M
Phenylalanin	Phe	F
Prolin	Pro	P
Serin	Ser	S
Threonin	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosin	Tyr	Y
Valin	Val	V

Tabelle 2: Linksventrikuläre Durchmesser und Verkürzungsfractionen der herzgesunden Hunde und der Patienten in den einzelnen Stadien (0 = herzgesund, 1 = noch normal 2 = nur VES, 3 = nur Echokardiographische Veränderungen, 4 = VES + echokardiographische Veränderungen, 5 = dekompensiert; längs = rechtsparasternale Längsachse, EDD = enddiastolischer Durchmesser in mm, ESD = endsystolischer Durchmesser in cm, FS = Verkürzungsfraction in %).

			Mittelwert	Median	Min	Max
0	Längs	EDD	4,02	4,04	2,89	4,83
		ESD	2,89	2,90	1,07	4,05
		FS	28,10	28,06	9,95	38,51
1	Längs	EDD	4,04	4,09	3,0	4,70
		ESD	2,97	3,05	2,16	3,50
		FS	26,13	25,35	17,39	30,0
2	Längs	EDD	4,20	4,20	2,98	5,05
		ESD	3,16	3,11	2,14	4,10
		FS	25,05	25,75	13,0	40,0
3	Längs	EDD	5,14	5,07	4,60	6,52
		ESD	4,12	4,05	3,28	5,86
		FS	19,44	19,50	9,0	35,88
4	Längs	EDD	5,22	5,03	4,37	6,40
		ESD	4,24	4,20	3,45	5,46
		FS	19,07	19,0	8,0	27,68
5	Längs	EDD	6,01	6,15	5,10	7,0
		ESD	5,21	5,0	4,09	6,70
		FS	13,59	11,27	4,0	28,16

Tabelle 3: Verhältnis des linksatrialen Durchmessers zum Durchmesser der Aorta (LA/Ao) bei den herzgesunden Hunden und den Patienten in den einzelnen Stadien der dilatativen Kardiomyopathie (0 = herzgesund, 1 = noch normal, 2 = nur VES, 3 = nur echokardiographische Veränderungen, = VES + echokardiographische Veränderungen, 5 = dekompensiert).

		Mittelwert	Median	Min	Max
0	LA/Ao	1,31	1,32	0,85	1,73
1		1,31	1,29	1,10	1,52
2		1,33	1,33	1,0	1,71
3		1,44	1,40	1,12	3,06
4		1,38	1,44	0,89	1,83
5		2,31	2,24	1,49	3,50

Tabelle 4: Durchmesser von linkem Atrium und Aorta bei den herzgesunden Hunden und den Patienten in den einzelnen Stadien der dilatativen Kardiomyopathie (0 = herzgesund, 1 = noch normal, 2 = nur VES, 3 = nur echokardiographische Veränderungen, = VES + echokardiographische Veränderungen, 5 = dekompensiert).

		Mittelwert	Median	Min	Max
0	Linkes Atrium	3,34	3,32	1,04	4,62
1		3,26	3,24	1,06	4,17
2		3,51	3,51	2,56	4,67
3		3,74	3,65	2,83	6,21
4		3,70	3,78	1,81	5,18
5		5,21	5,32	3,47	6,20
		Mittelwert	Median	Min	Max
0	Aorta	2,60	2,57	1,89	8,91
1		2,49	2,51	0,85	3,37
2		2,64	2,64	2,06	3,49
3		2,64	2,56	2,03	3,26
4		2,69	2,66	1,93	3,87
5		2,37	2,33	1,91	3,22

Tabelle 5: Linksventrikuläre Volumina und Ejektionsfraktionen der herzgesunden Hunde und der Patienten in den einzelnen Stadien berechnet pro Quadratmeter Körperoberfläche (0 = herzgesund, 1 = noch normal 2 = nur VES, 3 = nur echokardiographische Veränderungen, 4 = VES + echokardiographische Veränderungen, 5 = dekompensiert; li. = linksapikaler Vierkammerblick, re. = rechtsparasternale Längsachse, EDV = linksventrikuläres enddiastolisches Volumen in ml, ESV = linksventrikuläres endsystolisches Volumen in ml, EF = Ejektionsfraktion in %).

			Mittelwert	Mean	Min	Max
0	rechts	EDV	75,10	74,68	47,70	100,40
		ESV	37,66	37,48	20,60	54,60
		EF	49,86	49,79	27,75	66,71
	Links	EDV	76,84	77,40	37,0	100,3
		ESV	41,62	41,50	19,70	54,10
		EF	45,94	46,10	19,13	63,73
	Biplan	EDV	75,90	75,83	47,70	97,35
		ESV	39,63	39,50	22,75	51,35
		EF	47,65	48,02	7,71	59,35
1	Rechts	EDV	76,08	79,46	50,37	93,0
		ESV	39,07	41,60	21,65	53,10
		EF	49,11	48,42	39,31	57,92
	Links	EDV	76,46	76,47	47,86	99,60
		ESV	40,43	42,30	25,05	54,20
		EF	47,53	48,02	34,59	55,03
	Biplan	EDV	76,27	77,75	51,54	94,0
		ESV	39,75	40,29	24,89	50,25
		EF	48,29	48,0	39,51	57,49
2	Rechts	EDV	78,14	77,30	48,70	97,50
		ESV	40,06	39,52	27,70	55,36
		EF	48,28	48,62	34,37	67,64
	Links	EDV	79,61	82,03	49,50	99,30
		ESV	42,72	42,40	25,20	54,91

	Biplan	EF	46,08	45,88	32,37	58,80
		EDV	78,93	80,25	50,0	97,10
		ESV	41,36	42,05	28,90	54,77
		EF	47,26	46,80	35,82	60,52
3	Rechts	EDV	119,04	110,10	79,68	201,40
		ESV	74,71	69,64	45,81	160,0
		EF	37,97	39,91	20,54	50,55
	Links	EDV	116,43	110,10	77,05	178,0
		ESV	73,42	68,40	47,22	131,70
		EF	37,62	37,81	25,97	56,49
	Biplan	EDV	117,74	109,85	78,37	189,70
		ESV	74,06	71,12	46,76	145,85
		EF	37,89	38,60	26,60	52,35
4	Rechts	EDV	114,25	108,0	95,40	144,40
		ESV	72,58	69,0	53,36	106,80
		EF	37,20	36,55	22,99	50,0
	Links	EDV	111,99	107,78	94,40	142,10
		ESV	71,18	69,60	49,50	93,10
		EF	36,21	36,90	20,64	50,28
	Biplan	EDV	112,88	108,25	94,90	143,25
		ESV	71,85	67,0	51,95	98,20
		EF	41,30	38,84	21,82	134,94
5	Rechts	EDV	161,94	167,45	101,43	215,37
		ESV	123,59	120,90	48,30	202,91
		EF	25,48	26,53	6,0	52,38
	Links	EDV	152,54	144,38	102,79	226,11
		ESV	111,52	113,21	57,33	197,42

		EF	27,18	28,08	12,50	44,23
	Biplan	EDV	157,24	156,72	102,11	220,74
		ESV	117,55	117,10	52,82	200,17
		EF	26,78	26,41	10,0	48,30

Tabelle 6: Anzahl der Ventrikulären Extrasystolen in den einzelnen Stadien.

	Mittelwert	Minimum	Maximum
Gesund	4,94	0	46
Noch normal	12,42	0	42
Nur VES	4123,65	103	100000
Nur Echoveränderungen	18,32	0	80
VES + Echoveränderungen	2174,45	141	9501
dekompensiert	2170,31	12	12000

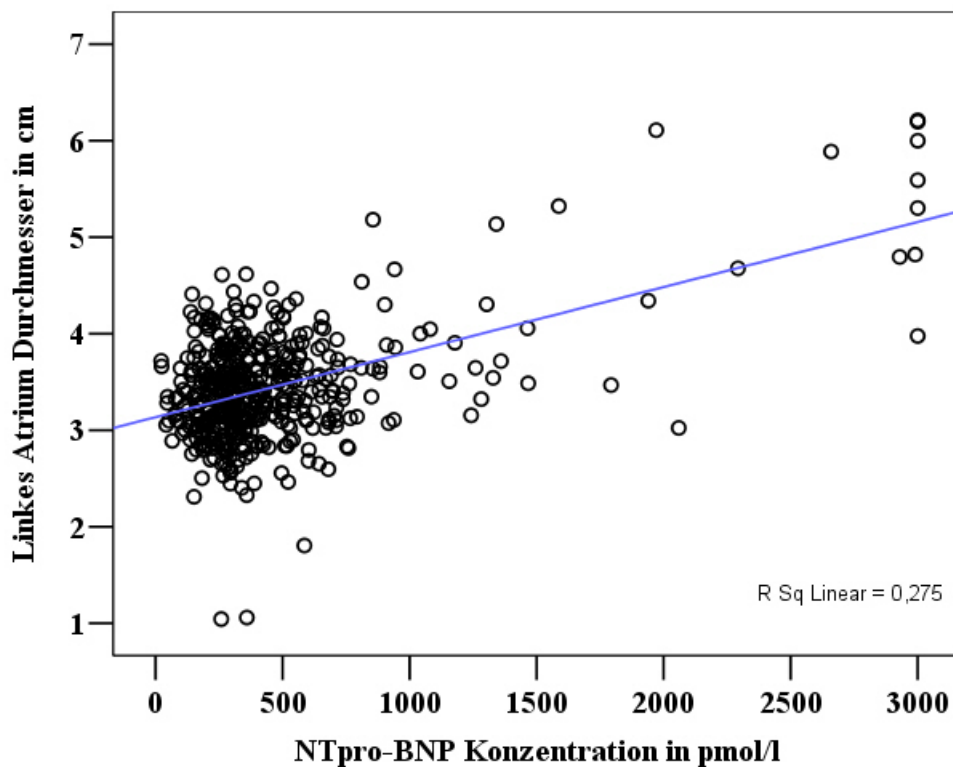


Abbildung 1: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem Durchmesser des linken Atriums.

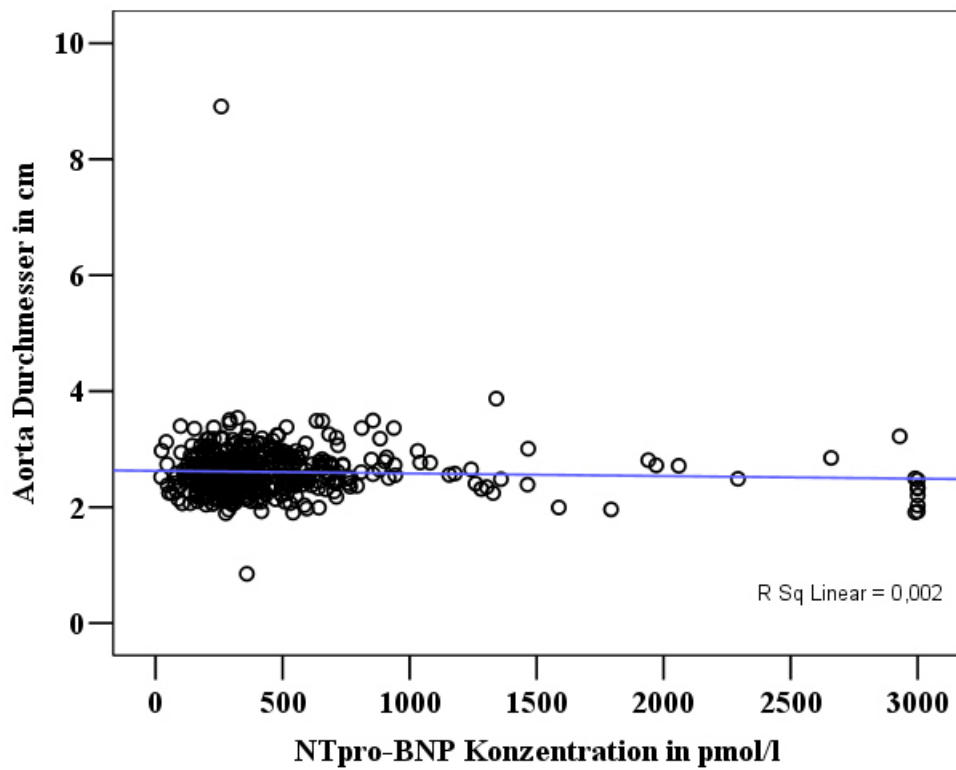


Abbildung 2: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem Durchmesser der Aorta.

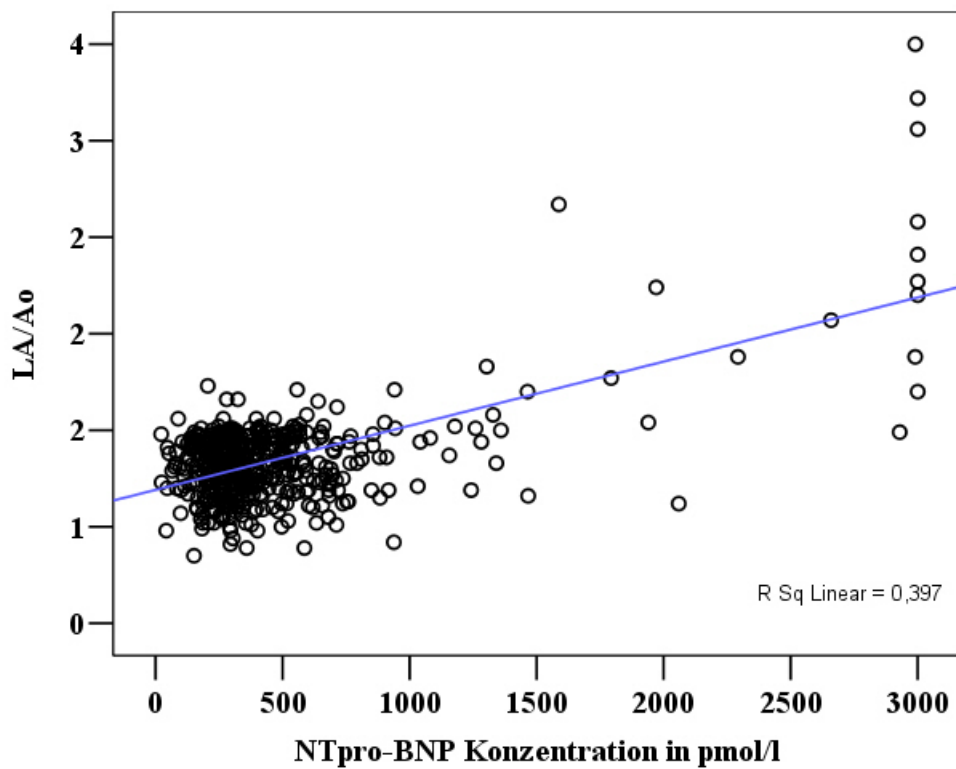


Abbildung 3: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit LA/Ao.

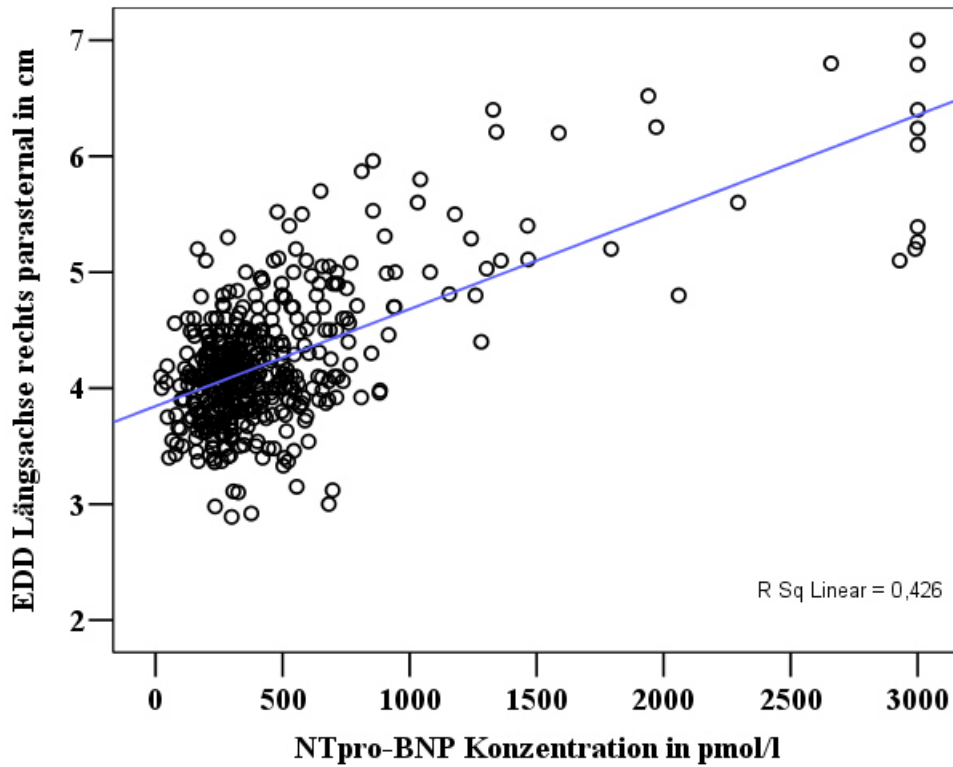


Abbildung 4: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem enddiastolischen Durchmesser des linken Ventrikels, gemessen in der Längsachse, aufgenommen von rechts parasternal.

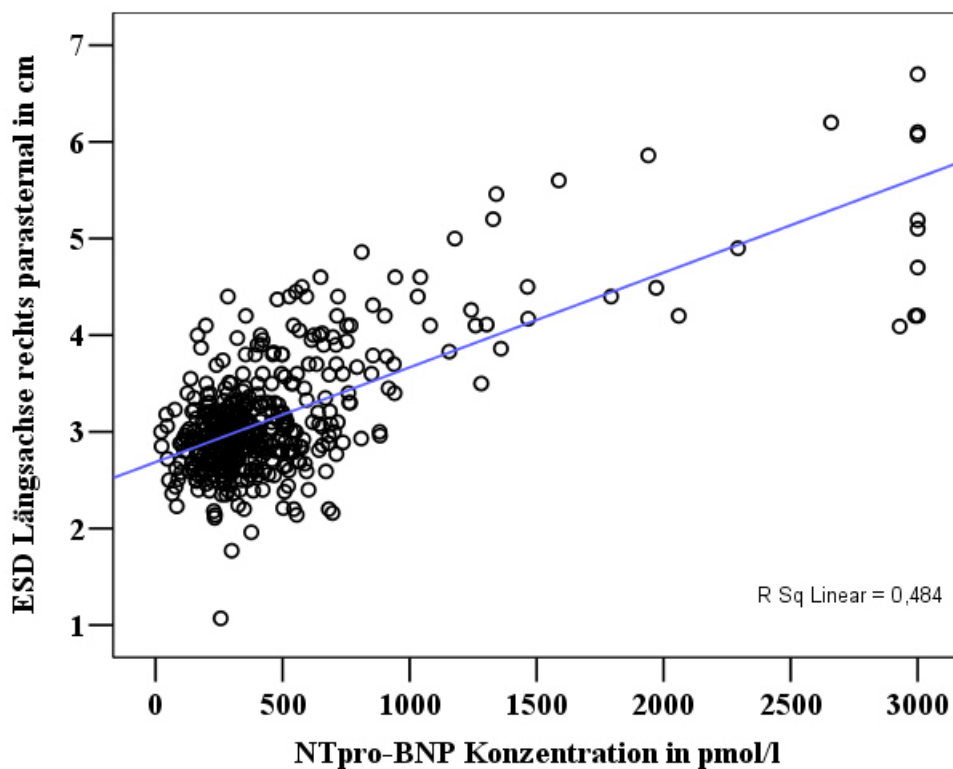


Abbildung 5: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem endsystolischen Durchmesser des linken Ventrikels, gemessen in der Längsachse, aufgenommen von rechts parasternal.

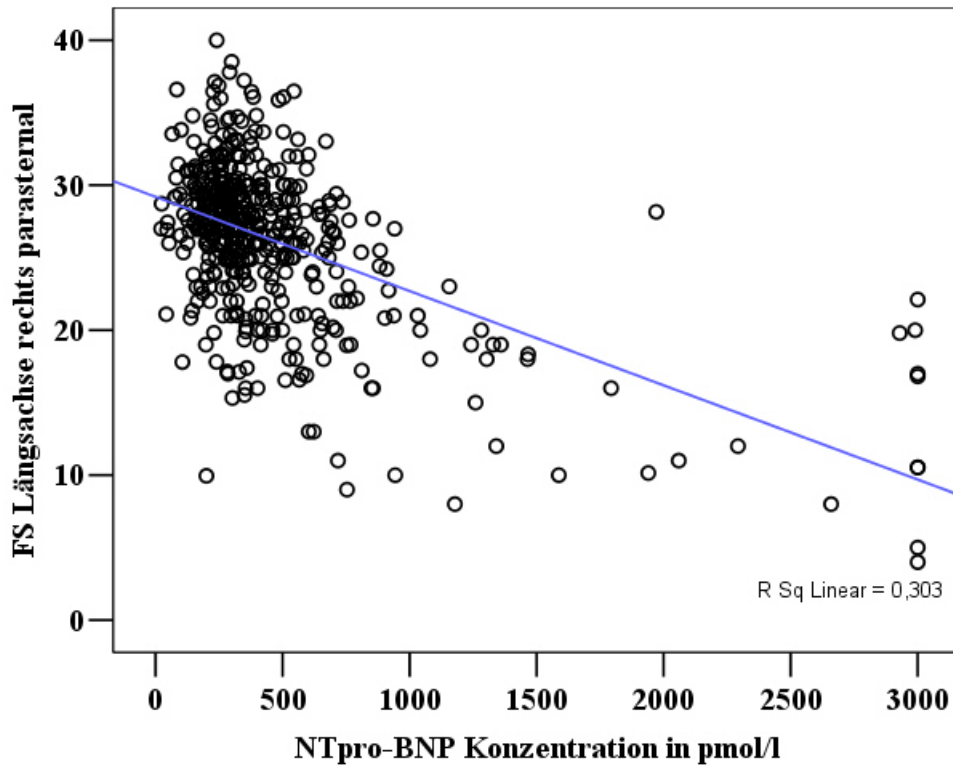


Abbildung 6: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit der Verkürzungsfraction des linken Ventrikels, gemessen in der Längsachse, aufgenommen von rechts parasternal.

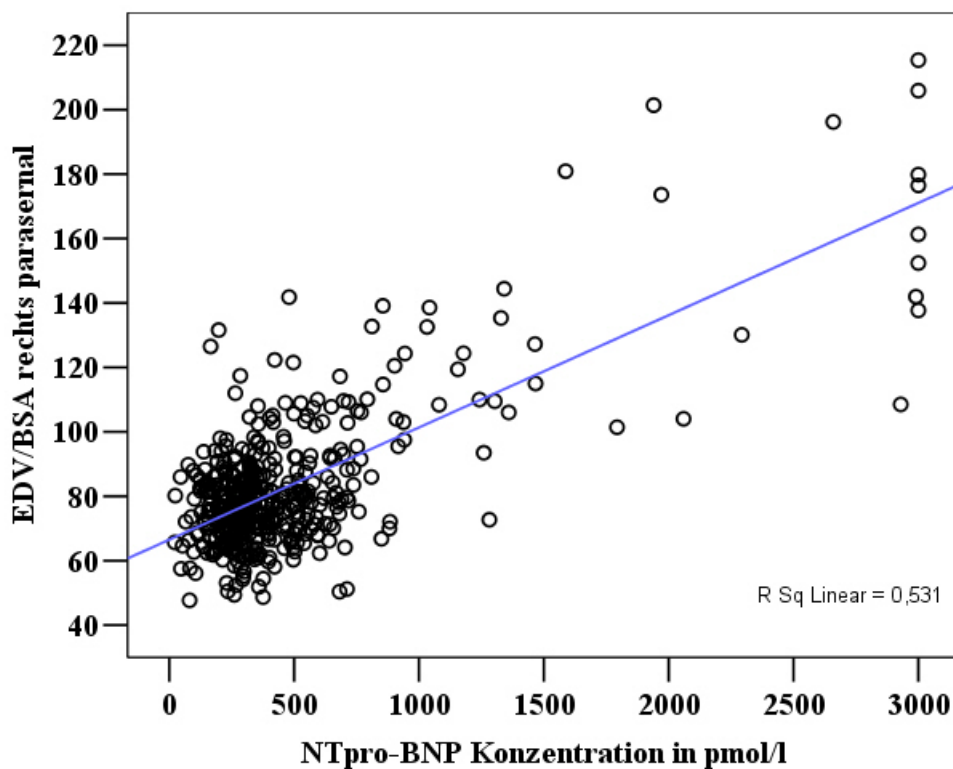


Abbildung 7: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem enddiastolischen Volumen bezogen auf m^2 Körperoberfläche, gemessen von rechts parasternal.

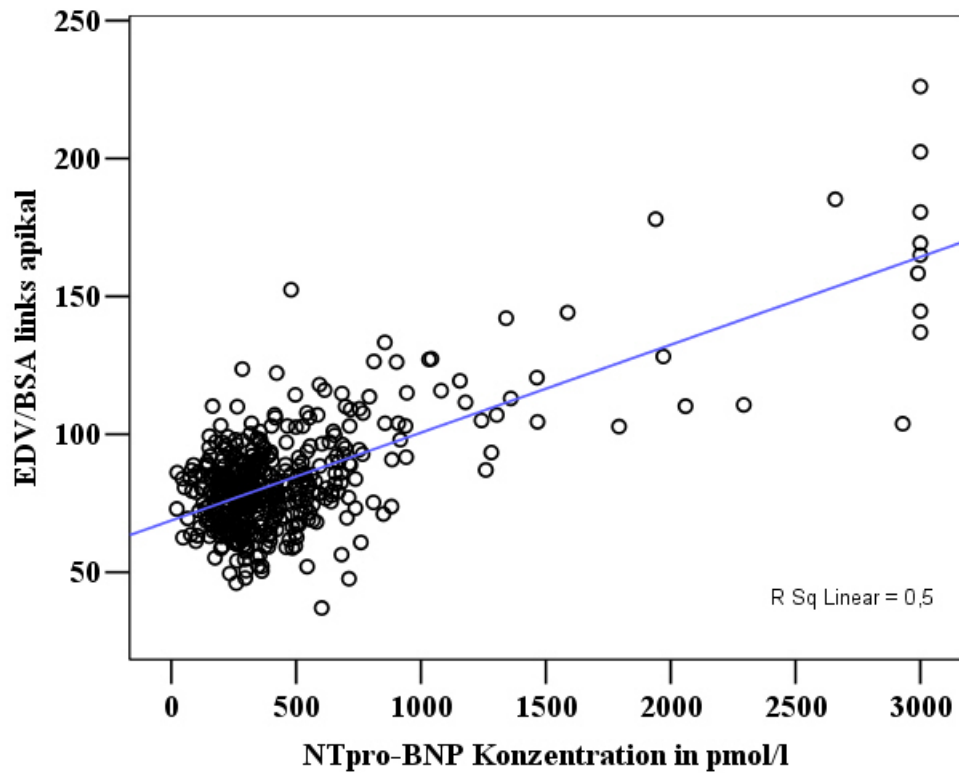


Abbildung 8: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem enddiastolischen Volumen bezogen auf m^2 Körperoberfläche, gemessen von links apikal.

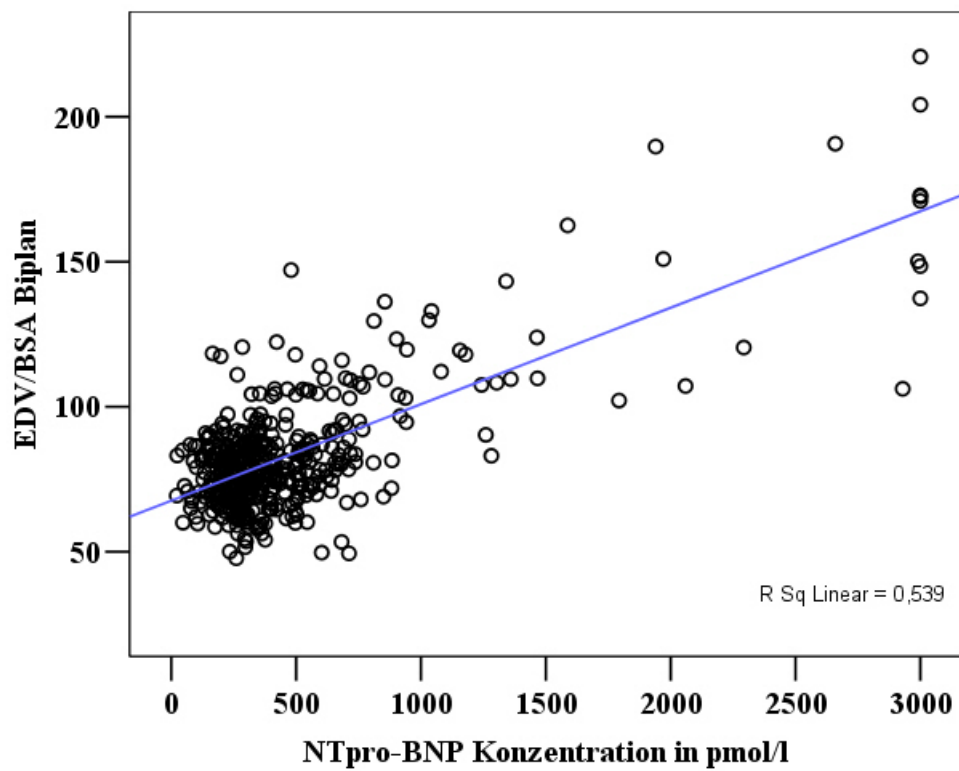


Abbildung 9: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem enddiastolischen Volumen bezogen auf m^2 Körperoberfläche, biplane Berechnung.

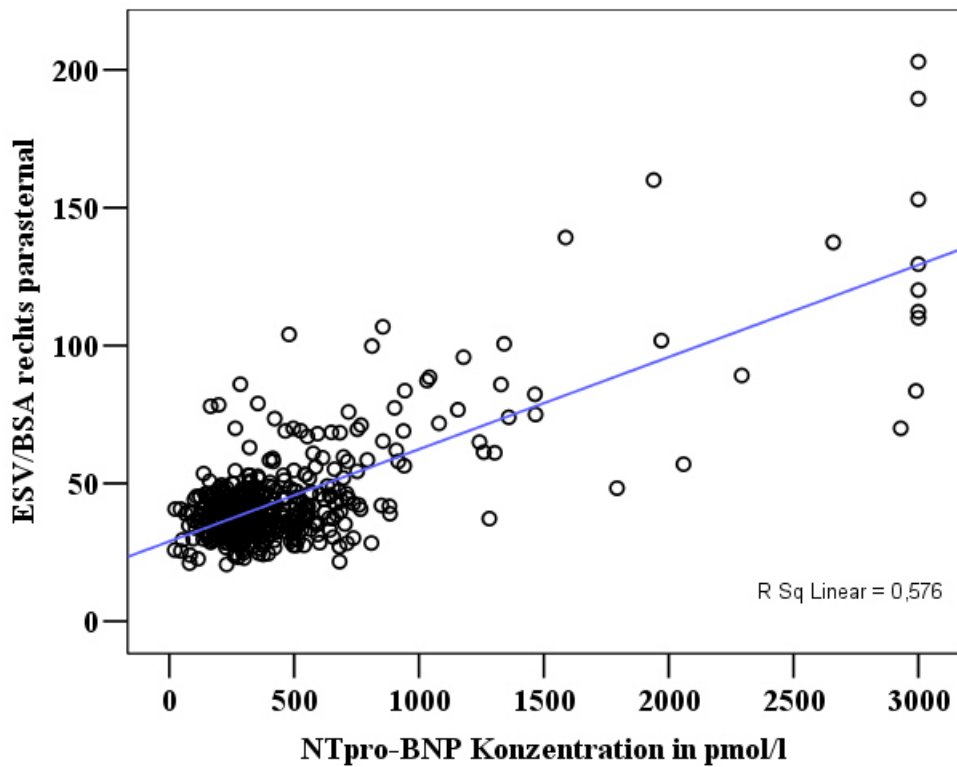


Abbildung 10: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem endsystolischen Volumen bezogen auf m^2 Körperoberfläche, gemessen von rechts parasternal.

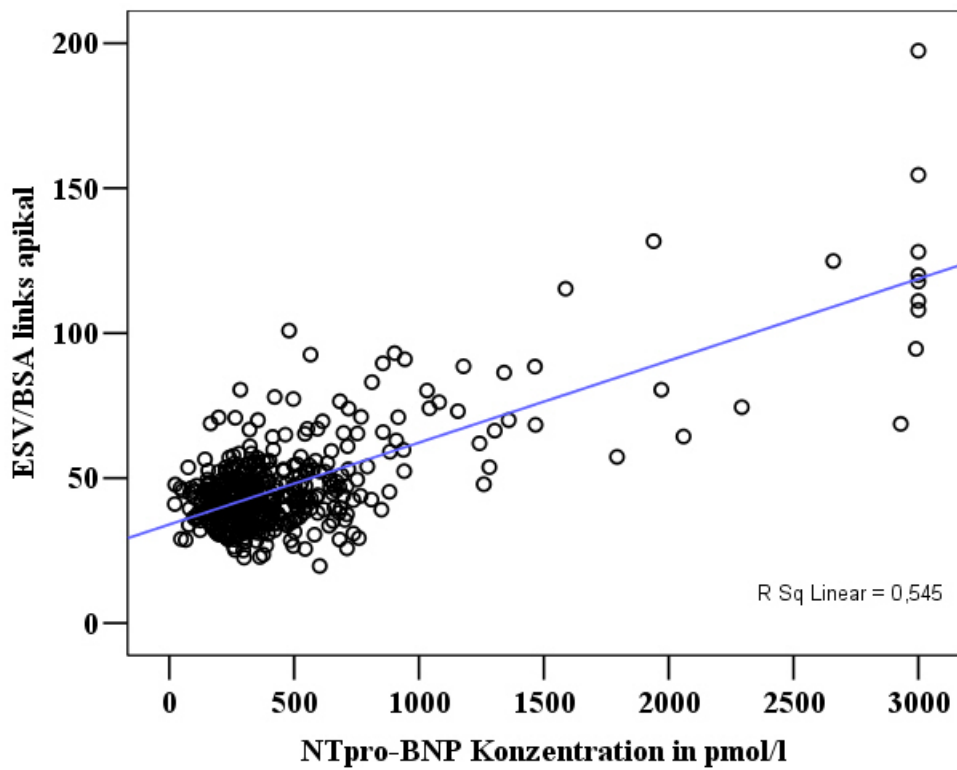


Abbildung 11: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem endsystolischen Volumen bezogen auf m^2 Körperoberfläche, gemessen von links apikal.

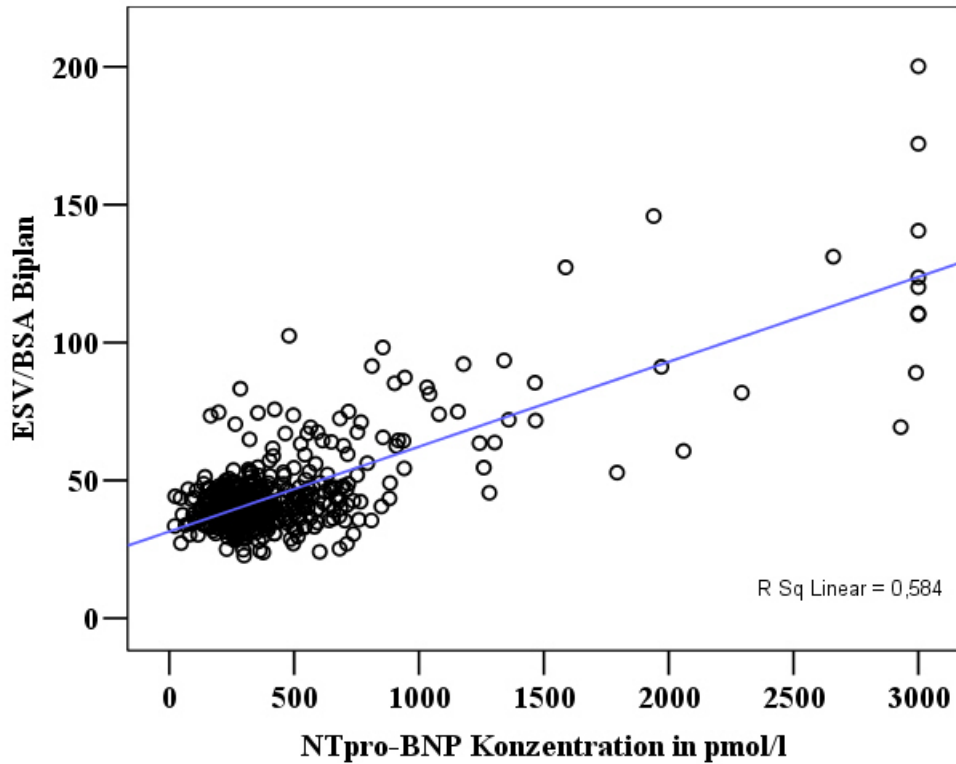


Abbildung 12: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit dem endsystolischen Volumen bezogen auf m^2 Körperoberfläche, biplane Berechnung.

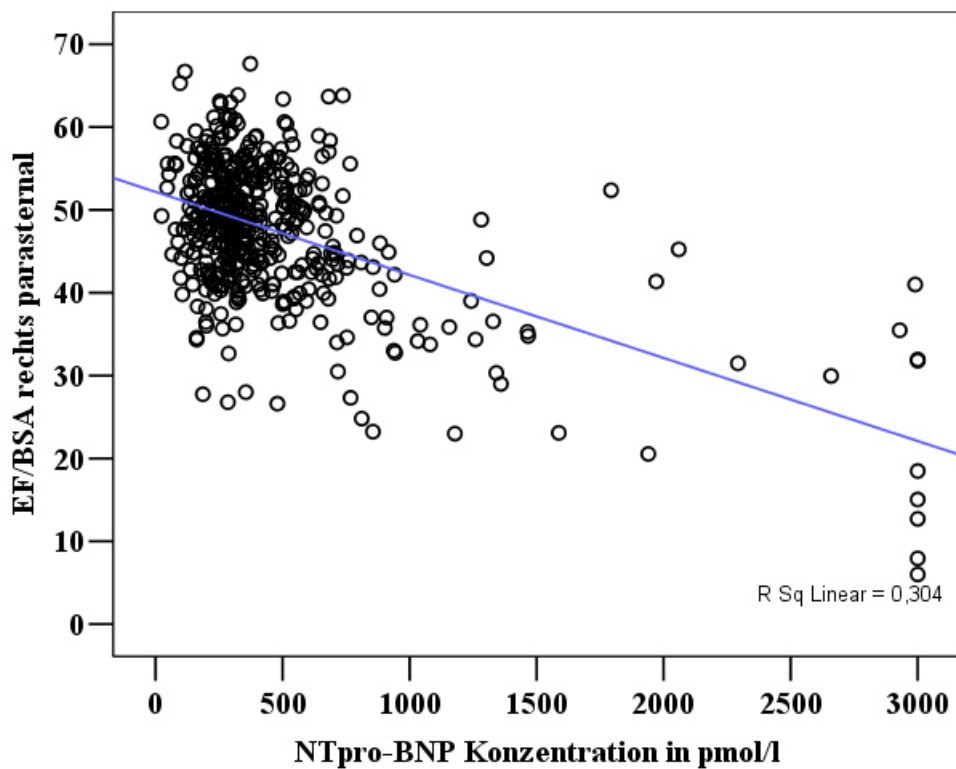


Abbildung 13: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit Ejektionsfraktion bezogen auf m^2 Körperoberfläche, gemessen von rechts parasternal.

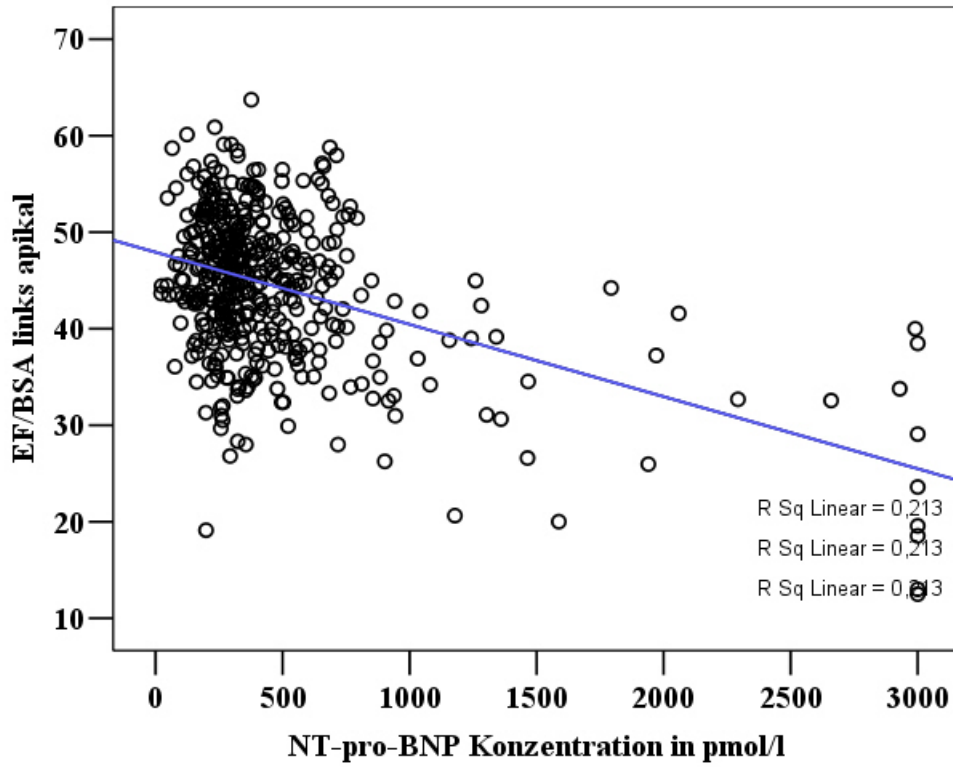


Abbildung 14: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit Ejektionsfraktion bezogen auf m^2 Körperoberfläche, gemessen von links apikal.

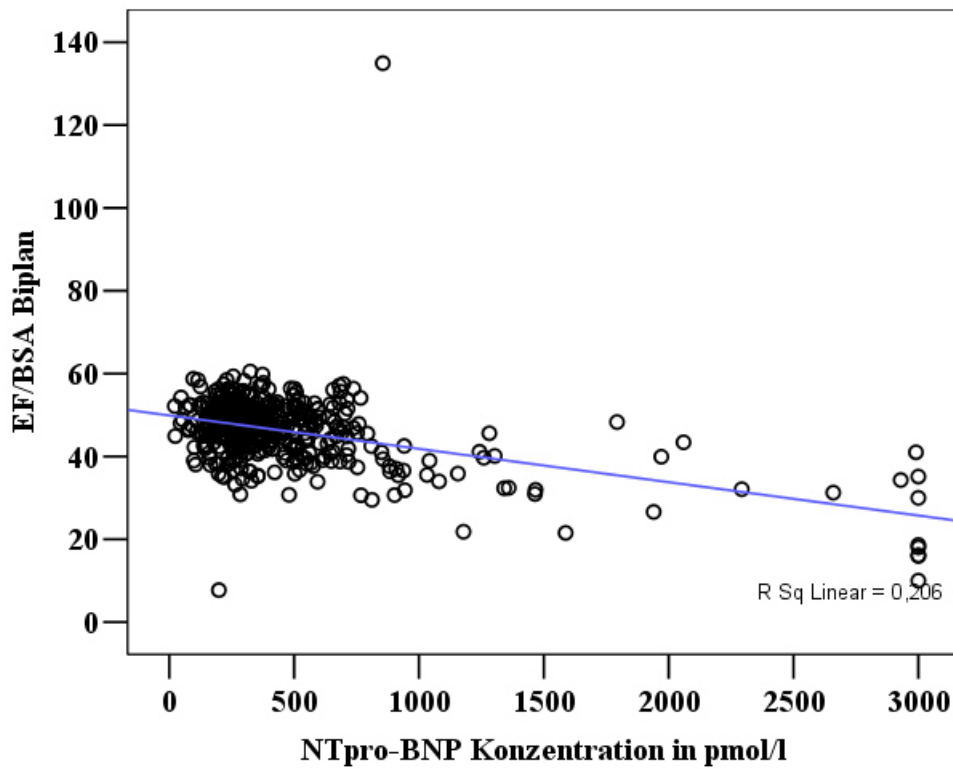


Abbildung 15: Scatterplot zur Darstellung der Korrelation von NTpro-BNP mit Ejektionsfraktion bezogen auf m^2 Körperoberfläche, biplane Berechnung.

X. DANKSAGUNG

Meiner Doktormutter Frau Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann danke ich besonders für ihr Interesse an diesem Thema, ihre Hilfestellung, ihre Unterstützung und Gelassenheit trotz des Zeitdrucks kurz vor der Abgabe. Ihre wertvollen Korrekturvorschläge und fachlichen Anregungen haben meine Arbeit sehr bereichert.

Dr. Gerhard Wess, meinem Betreuer, danke ich herzlichst für dieses hochinteressante Thema, seine Loyalität, sein Vertrauen und seine Unterstützung. Danke Gerhard für Deinen jederzeit gerne gewährten fachlichen und freundschaftlichen Rat und für meine kardiologische Ausbildung!

Herrn Prof. Ammer, Institut für Pharmakologie und Toxikologie der LMU München, danke ich für die Bereitstellung des Labors zur Durchführung der Tests. Besonders bedanke ich mich bei seinem Mitarbeiter Thomas Christ, der kürzlich so plötzlich verstorben ist. Durch seine fundierte Einarbeitung in die Labortätigkeit, sein jederzeit offenes Ohr für meine unzähligen Fragen und seine vielen Ratschläge hat er sehr zum Gelingen dieser Studie beigetragen.

Herrn Dr. Oliver Mihatsch danke ich sehr für die Erstellung der Programme zur Auswertung der Rohdaten, das Übertragen der Grundregel „automatisierbar und reproduzierbar“ auf meine Datenerhebung und die „Übersetzung“ von Mathematik in Deutsch. Seine elementare Hilfe zum Verständnis der mathematischen Grundlagen der Statistik hat nicht nur diese Dissertation, sondern auch mich persönlich bereichert.

Herrn Prof. Küchenhoff und seiner Mitarbeiterin Veronika Fensterer, Institut für Statistik der LMU München, danke ich für ihre Beratung und Hilfsbereitschaft.