

**Bestimmung des „Brain Natriuretic Peptide“ (BNP)  
bei herzkranken Hunden**

**Natalie Häussler**

Aus der  
Medizinischen Kleintierklinik  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Dr. habil. Katrin Hartmann

angefertigt unter der Leitung von  
Univ.-Prof. Dr. med. vet. Dr. habil. Johannes Hirschberger

**Bestimmung des „Brain Natriuretic Peptide“ (BNP)  
bei herzkranken Hunden**

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

von  
Natalie Häussler  
aus München  
München 2004

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Andreas Stolle  
Referent: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Dr. habil. Johannes Hirschberger  
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Dr. R. G. Erben

Tag der Promotion: 23. Juli 2004

für meine Mutter

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>LITERATUR .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1</b>	<b>Die natriuretischen Peptide.....</b>	<b>10</b>
<b>2.2</b>	<b>Rezeptorbindung.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3</b>	<b>BNP .....</b>	<b>15</b>
2.3.1	Genetische Grundlagen .....	15
2.3.2	Genexpression und Ausschüttung von BNP .....	17
2.3.2.1	Mechanische Faktoren.....	17
2.3.2.2	Parakrine Faktoren .....	19
	Endothelin I (ET-1).....	19
	Angiotensin II .....	20
	Katecholamine .....	21
2.3.3	Freisetzung von BNP .....	21
2.3.4	Metabolismus von BNP .....	22
	Neutrale Endopeptidase .....	22
	Natriuretischer Peptidrezeptor C.....	22
2.3.5	Wirkung im Organismus .....	24
	Natriuresis und Diurese .....	24
	Renin-Angiotensin-Aldosteronsystem.....	24
	Blutdruck .....	26
	Nachlast .....	26
	Vorlast .....	26
	Antifibrotische Wirkung.....	27
	Inotropie.....	27
	Sympathisches Nervensystem.....	27
<b>2.4</b>	<b>BNP beim Herzversagen .....</b>	<b>28</b>
2.4.1	Systolische Dysfunktion .....	28
2.4.2	Diastolische Dysfunktion.....	28
2.4.3	Hypertonie und ventrikuläre Hypertrophie .....	29
2.4.4	Kardiomyopathien.....	29
2.4.5	Kongestive Herzinsuffizienz.....	30
2.4.6	Myokardinfarkt .....	30
2.4.7	Verhältnisse beim Hund.....	31
<b>2.5</b>	<b>BNP: Potential und Möglichkeiten für die Zukunft .....</b>	<b>32</b>
	Therapiemonitoring .....	32
	Screening Test .....	33
	Therapiemöglichkeiten .....	34
<b>2.6</b>	<b>Pathophysiologie des Herzversagens.....</b>	<b>36</b>
2.6.1	Systolische Funktion und Dysfunktion .....	36
2.6.2	Diastolische Funktion und Dysfunktion.....	38
<b>2.7</b>	<b>Neurohumorale Kompensationsmechanismen.....</b>	<b>39</b>
2.7.1	Das Renin-Angiotensin-Aldosteronsystem .....	39
<b>2.8</b>	<b>Die ISACHC-Klassifizierung .....</b>	<b>41</b>

<b>3</b>	<b>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</b>	<b>42</b>
<b>3.1</b>	<b>Zielsetzung</b>	<b>42</b>
<b>3.2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>42</b>
3.2.1	Patientengut	42
3.2.1.1	Klinische Untersuchung	45
3.2.1.2	Sonographische Untersuchung	45
	Untersuchung von rechtsparasternal	45
	Untersuchung von linksthorakal	46
3.2.1.3	Blutentnahme	47
3.2.2	Radioimmunoassay	47
3.2.2.1	Testprinzip	47
3.2.2.2	Aufbereitung der Proben	48
	Plasmagewinnung	48
	BNP-Extraktion	48
3.2.2.3	Durchführung des Radioimmunoassays	49
	Tag 1	50
	Tag 2	52
	Tag 3	53
<b>3.3</b>	<b>Datenauswertung und Dokumentation</b>	<b>54</b>
3.3.1	ISACHC-Klassen	54
3.3.1.1	Patienten der Klasse ISACHC Ia	56
	Befunde	56
	Auswertung	60
3.3.1.2	Patienten der Klasse ISACHC Ib	60
	Befunde	60
	Auswertung	63
3.3.1.3	Patienten der Klasse ISACHC II	63
	Befunde	63
	Auswertung	66
3.3.1.4	Patienten der Klasse ISACHC IIIa	66
	Befunde	66
	Auswertung	69
3.3.1.5	Patienten der Klasse ISACHC IIIb	70
	Befunde	70
	Auswertung	72
3.3.2	Deskriptive Auswertung	73
3.3.2.1	Zusammenhang zwischen BNP und Alter	73
3.3.2.2	Zusammenhang zwischen BNP und LA/Ao	74
3.3.2.3	Zusammenhang zwischen BNP und Geschlecht	75
3.3.2.4	Zusammenhang zwischen BNP und der Rasse	76
3.3.2.5	Zusammenhang zwischen BNP und der Art des Herzbefundes	77
3.3.2.6	Zusammenhang zwischen BNP und dem Schweregrad der Herzkrankheiten	78
3.3.2.7	Zusammenhang zwischen BNP und der ISACHC-Klassifizierung	79
3.3.2.8	BNP bei Patienten mit kardialen und nicht-kardialen Befunden	80
3.3.3	Einfache Regressionsanalyse für metrische Variablen	81
3.3.3.1	Zusammenhang zwischen BNP und Patientenalter	81
3.3.3.2	Zusammenhang zwischen BNP und LA/Ao	81
3.3.4	Einfaktorielle Varianzanalyse für kategoriale Variablen	82
3.3.4.1	Zusammenhang zwischen BNP und Geschlecht	82
3.3.4.2	Zusammenhang zwischen BNP und der Rasse	83
3.3.4.3	Zusammenhang zwischen BNP und der Art des Herzbefundes	84
3.3.4.4	Zusammenhang zwischen BNP und dem Schweregrad der Herzkrankheit	85
3.3.4.5	Zusammenhang zwischen BNP und der ISACHC-Klassifizierung	86
3.3.4.6	BNP bei Patienten mit kardialen und zusätzlichen nicht-kardialen Befunden	87
3.3.5	Mehrfaktorielle Varianzanalyse	88
3.3.5.1	Modell mit allen kategorialen Variablen (Modell 1)	88
3.3.5.2	Modell nur mit ISACHC (Modell 2)	89
3.3.5.3	Modell mit Herzkrankheit und Schweregrad ohne ISACHC (Modell 3)	90
3.3.6	Sensitivität	91

<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>93</b>
<b>4.1</b>	<b>Versuchsdurchführung .....</b>	<b>93</b>
4.1.1	Patientengut .....	93
4.1.2	RIA .....	93
4.1.3	Sonographische Untersuchung.....	93
<b>4.2</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>94</b>
4.2.1	Regressions- und Varianzanalyse .....	94
4.2.1.1	Zusammenhang zwischen BNP und Patientenalter .....	94
4.2.1.2	Zusammenhang zwischen BNP und anatomischem LA/Ao-Verhältnis .....	94
4.2.1.3	Zusammenhang zwischen BNP und Patientengeschlecht.....	95
4.2.1.4	Zusammenhang zwischen BNP und Rasse.....	95
4.2.1.5	Zusammenhang zwischen BNP und der Art des Herzbefundes .....	96
4.2.1.6	Zusammenhang zwischen BNP und dem Schweregrad der Herzkrankheit.....	97
4.2.1.7	Zusammenhang zwischen BNP und ISACHC-Klassifizierung.....	98
4.2.1.8	Einfluss nicht-kardialer Krankheiten auf die BNP-Werte .....	100
<b>4.3</b>	<b>Schlussbetrachtung.....</b>	<b>101</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>103</b>
<b>6</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>105</b>
<b>7</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>107</b>
7.1	Tabellenverzeichnis: .....	107
7.2	Abbildungsverzeichnis .....	108
7.3	Abkürzungsverzeichnis .....	109
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>113</b>
<b>9</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>125</b>
<b>10</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>126</b>

# 1 EINLEITUNG

In den ersten 16 Jahren seit der Entdeckung des Brain Natriuretic Peptide (BNP) durch Sudoh et al. (1988) (1, 2) hat das Peptid vor allem in der Humanmedizin zunehmend an Bedeutung gewonnen. Zahlreiche Untersuchungen beschäftigten sich seitdem mit dem Potential des BNP zur Diagnose und Therapie von Herzkrankheiten. Dabei stand in der großen Mehrzahl der Studien die Bedeutung der BNP-Messung für die Humanmedizin im Vordergrund (Studien am Menschen oder im Tiermodell). Die Bedeutung der BNP-Messung für die veterinärmedizinische Diagnostik blieb aber weitgehend vernachlässigt.

BNP ist ein körpereigenes Peptid, das im Organismus eine potente Natriurese und Diurese vermittelt, und gilt als bedeutender Gegenspieler des Renin-Angiotensin-Aldosteronsystems (3). Weiterhin hat BNP ein bedeutendes Potential als Vasodilatator (4) und besitzt antifibrotische Wirkung – vor allem am Herzmuskel (5). Auch seine Bedeutung als Vor- und Nachlastsenker ist beschrieben – sowohl beim gesunden als auch beim herzkranken Hund (6).

Die vorliegende Studie befasst sich mit den diagnostischen und prognostischen Potentialen einer BNP-Messung bei herzkranken Hunden in verschiedenen Krankheitsstadien. Dabei soll geklärt werden, inwieweit die BNP-Messung zur Früherkennung von kardiovaskulären Krankheiten beim Hund, sowie zu deren Diagnose und deren Einteilung in die verschiedenen Krankheitsstadien geeignet ist. Ferner wird der Frage nachgegangen, ob die BNP-Messung in der tiermedizinischen Praxis als Screening-Test für Herzkrankheiten brauchbar ist und somit die gängigen Diagnostika wie Röntgen oder Ultraschall ergänzen oder – bei asymptomatischen Patienten – sogar ersetzen kann. In der Humanmedizin hat die BNP-Messung in der Notfalldiagnostik dyspnoeischer Patienten bereits große Bedeutung erlangt (7). Die Bedeutung der Plasma-BNP-Messung in der Notfalldiagnostik beim dyspnoeischen Hund soll durch die vorliegende Studie besser einschätzbar werden.



Zu diesem Zweck wurde bei 72 Hunden die BNP-Konzentration im Plasma mittels eines Radioimmunoassays gemessen. Die erhaltenen Werte wurden mit dem Alter, dem Geschlecht und der Rasse der Patienten, dem sonographisch ermittelten Verhältnis von linkem Atrium zur Aorta und der Art und dem Schweregrad der Herzkrankheit verglichen und in Beziehung gesetzt. Besonderes Augenmerk lag dabei auf den Zusammenhängen zwischen der BNP-Plasmakonzentration und den Einordnungen der ISACHC-Klassifizierung. Die Einteilung der Patienten in die fünf verschiedenen ISACHC-Gruppen (International Small Animal Cardiac Health Council) basiert auf klinischen Symptomen der Patienten. Zur exakten Einteilung werden weitere Diagnostika – Ultraschall und gegebenenfalls Röntgenuntersuchungen – hinzugezogen. Den Gruppenbildungen – also der Einordnung in die verschiedenen Klassen – ging eine umfangreiche klinische und sonographische Untersuchung voraus.

## 2 LITERATUR

### 2.1 Die natriuretischen Peptide

Die Entdeckung des Atrial Natriuretic Peptide durch de Bold et al. (1981) (8) und – in der Folge – weiterer Mitglieder dieser Peptidfamilie veränderte radikal das Bild des Herzens. Betrachtete man das Herz bislang als mechanische Pumpe, weiß man jetzt um seine Funktion als neuroendokrines Organ.

Die natriuretischen Peptide sind eine Gruppe von strukturell verwandten, aber genetisch unterschiedlichen Peptiden, die vielfältige kardiovaskuläre, renale und endokrine Wirkungen entfalten (9). Sie sind zu wichtigen Parametern zur Kontrolle von kardiovaskulärer Hämodynamik, ventrikulärem Remodelling sowie dem Salz- und Wasserhaushalt geworden (9).

Die Prohormone der fünf bekannten natriuretischen Peptide sind auf drei separaten Genen kodiert. Zur Familie der natriuretischen Peptide gehören das Atrial Natriuretic Peptide (ANP), das Brain Natriuretic Peptide (BNP), das C-Type Natriuretic Peptide (CNP) und Urodilatin (9). Das bei der grünen Mamba schon seit 1992 bekannte Dendroaspische Natriuretische Peptid (DNP) scheint in verwandter Form auch bei Säugetieren und dem Menschen vorzukommen (10).

Bei den bekannten natriuretischen Peptiden handelt es sich um Oligopeptide. Gemeinsam haben sie eine 17-Aminosäuren-Ringstruktur, die über eine Disulfidbrücke geschlossen ist.

Die natriuretischen Peptide binden mit unterschiedlicher Affinität an membrangebundene Rezeptoren – die natriuretischen Peptidrezeptoren (NPR). Bisher sind drei Rezeptoren bekannt: die natriuretischen Peptidrezeptoren A, B und C (11). Je nach Literaturangabe findet man auch die Bezeichnung „natriuretischer Peptidrezeptor 1, 2 und 3“ (9).

Das natriuretische Peptidsystem als ein endokrines, parakrines und autokrines System ist wesentlich an der Regulation des Salz- und Wasserhaushaltes eines Organismus beteiligt und somit auch für die Modifikation des systemischen Blutdrucks von Bedeutung. Über CNP ist das natriuretische Peptidsystem auch am vaskulären Remodelling beteiligt (12). Seit mehr als 15 Jahren werden die hämodynamischen, renalen und endokrinologischen Effekte dieser Peptide intensiv in der Grundlagenforschung sowie in klinischen Studien untersucht. Die Aktivie-

nung des kardialen natriuretischen Peptidsystems bei Patienten mit linksventrikulärer Dysfunktion ist hier von besonderem Interesse, da erhöhte Plasmakonzentrationen dieser Peptide als wichtige therapeutische und prognostische Indikatoren gelten. Die kardialen natriuretischen Peptide vermitteln unter anderem systemische Vasodilatation, Natriurese, Diurese und eine Renininhibition (13).

ANP und BNP sind kardiale Hormone. Sie werden hauptsächlich in den Atrien und Ventrikeln synthetisiert und von hier aus auch sezerniert (11). Sie zirkulieren im Blutkreislauf und modulieren direkt den Blutdruck sowie den Wasser- und Elektrolythaushalt des Körpers. Somit regulieren ANP und BNP indirekt die kardiale Vor- und Nachlast (11).

Das Oligopeptid ANP besteht aus 28 Aminosäuren. Es wird beim Menschen von den Atrien synthetisiert und sezerniert (8, 14, 15). ANP wird in den Myozyten als ein aus 126 Aminosäuren bestehendes Prohormon (proANP) gespeichert. Bei der Sekretion wird das Prohormon gespalten in einen N-terminalen Teil mit 98 Aminosäuren und den biologisch aktiven Teil mit 28 Aminosäuren (15). N-ANP ist in experimentellen Studien einfacher zu messen, da es im Plasma – verglichen mit ANP – eine signifikant längere Halbwertszeit besitzt und somit im Plasma bis zu 50-fach höher konzentriert ist als ANP (14-16).

Das Oligopeptid BNP entspricht in seiner Struktur dem ANP. Es besteht beim Hund und beim Menschen in seiner aktiven Form aus 32 Aminosäuren. ANP und BNP verwenden an Endothelzellen den gleichen Guanylatzyklaserzeptor. BNP wurde erstmals durch Sudoh et al. (1988) aus dem Gehirn von Schweinen isoliert – daher hat es auch seinen Namen (1, 2). Bald konnte jedoch gezeigt werden, dass auch BNP hauptsächlich in kardialen Myozyten gebildet, gespeichert und hieraus sezerniert wird. BNP wird beim Menschen hauptsächlich aus dem Ventrikel sezerniert – als Antwort auf erhöhte ventrikuläre Wandspannung und Dilatation. Auch die atrialen Myozyten können kleinere Mengen BNP ausschütten (17, 18). Im Gegensatz zum Menschen wird bei gesunden Hunden das BNP hauptsächlich in den Atrien und nicht in den Ventrikeln synthetisiert (19, 20). Die Konzentration an zirkulierendem BNP ist bei Patienten mit Herzversagen proportional zum Schweregrad der Erkrankung erhöht (17). Ebenso wie bei ANP bewirken Infusionen von BNP bei Patienten mit Herzversagen eine Reduktion von Vor- und Nachlast, steigern das Auswurfvolumen, forcieren Natriurese und Diurese und senken die Aldosteronkonzentration (18).

CNP, zunächst als Neuropeptid erkannt, wird mittlerweile als Peptid vaskulären Ursprungs eingeordnet. CNP besteht aus 22 Aminosäuren (21) und entsteht im Gegensatz zu ANP und BNP vor allem in Endothelzellen (9, 11). Die Konzentration an zirkulierendem CNP in der Blutbahn ist sehr gering. Es hat keine potente natriuretische Wirkung, kann jedoch Vasodilatation und Wachstumshemmung von glatten Muskelzellen vermitteln (9). CNP gilt als selektiver Venodilatator (21). Es kann den Phänotyp von vaskulären glatten Muskelzellen modulieren und daher in das vaskuläre Remodelling steuernd eingreifen. Weiterhin wird diskutiert, ob es als „Peptidic Endothelium-derived relaxing Faktor (EDRF)“ beschrieben werden kann (11). Die endotheliale Produktion von CNP wird durch verschiedene Zytokine sowie Wachstumsfaktoren gesteigert, beispielsweise dem „transforming growth factor-beta“ oder dem „tumor necrosis factor-alpha“. Somit spielt CNP eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie bei verschiedenen vaskulären Krankheiten (22).

Urodilatin, ein 32-Aminosäuren-carboxyterminales Peptid, entsteht in den distalen Nierentubuli durch alternative Spaltung des pro-ANP. Nach seiner Freisetzung bindet das Urodilatin an luminale Rezeptoren und vermittelt eine cGMP-abhängige Suppression der Natriumreabsorption (23).

Das Dendroaspis Natriuretic Peptid (DNP) wurde ursprünglich aus dem Venom der grünen Mamba (*Dendroaspis angusticeps*) isoliert, besteht aus 38 Aminosäuren und enthält ebenfalls die konservierte Disulfid-Ringstruktur (10). Erst vor kurzem wurde im humanen Plasma und im atrialen Myokardium ein weiteres natriuretisches Peptid nachgewiesen, das dem DNP verwandt ist (24). Dieses Peptid besitzt natriuretisches Potential (25), erhöht die Konzentration an cGMP im Urin sowie im Plasma und dilatiert die Koronararterien (26).

## **2.2 Rezeptorbindung**

Die natriuretischen Peptide binden an eine Gruppe von Rezeptoren, die auf den Zelloberflächen vieler Körpergewebe lokalisiert sind (9). Jeder dieser Rezeptoren besitzt eine extrazelluläre Domäne, die die Bindung vermittelt, sowie eine transmembranöse Domäne (9). Sowohl der natriuretische Peptidrezeptor A (NPR-A, auch NPR1) als auch der natriuretische Peptidrezeptor B (NPR-B, auch NPR2) hat einen zytoplasmatischen Anteil, der die Guanylatzyklaseaktivität vermittelt und kinasehomologe Regionen besitzt (9). Durch die Guanylatzyklase kommt es zu einer Bildung von cGMP (zyklisches Guanosin-3',5'-monophosphat) aus GTP (Guanosin-5'-monophosphat). Der dritte Rezeptor dieser Gruppe (NPR-C oder NPR3) (27)

entspricht in seiner extrazellulären Domäne den Rezeptoren NPR-A und -B, besitzt jedoch auf seiner zytoplasmatischen Seite eine Domäne, die aus 37 Aminosäuren besteht und eine G-Proteinaktivierung vermittelt (28). Bei Studien mit Mäusen konnte gezeigt werden, dass NPR-C als „Clearance“-Rezeptor fungiert (29) und somit die lokale Regulation der natriuretischen Peptide beeinflusst.

Studien haben gezeigt, dass die natriuretischen Peptide kompetitiv an ihre Rezeptoren binden. Nach experimenteller Infusion eines natriuretischen Peptids kann ein erhöhter Plasmaspiegel der anderen Peptide gemessen werden. Das liegt vor allem an einem kompetitiven Verdrängungsmechanismus am Clearance-Rezeptor, dem NPR-C (30, 31).

#### NPR-A:

An den NPR-A binden hauptsächlich ANP und BNP, wobei die Bindungsaffinität für ANP etwa zehnfach höher ist als die von BNP. Auch CNP kann an den natriuretischen Peptidrezeptor A binden, jedoch ist seine Bindungsaffinität noch wesentlich geringer als die des BNP. Beim Menschen spannt sich das NPR-A-Gen über 16 kb auf dem Chromosom 1q21-q22 aus. Es enthält 22 Exons, die für 1.061 Aminosäuren kodieren. Die Sequenz, die für die transmembranöse Domäne kodiert, konnte auf Exon 7 lokalisiert werden (9).

Der NPR-A wird hauptsächlich in der Vaskulatur, in den Nieren und in den Nebennieren exprimiert. Die Aktivierung des NPR-A wird über die Bindung von ANP oder BNP vermittelt (9). Die Peptide binden an die extrazelluläre Domäne und bewirken eine Phosphorylierung an bis zu sechs Stellen an der kinasehomologen Domäne der zytoplasmatischen Seite (32). Seine Stimulation bewirkt Vasorelaxation, Natriurese und vermindert die Aldosteronsynthese (9). Bei Knock-out-Mäusen, denen ein funktionierendes NPR-A-Gen fehlt, kommt es zu Hypertonie, kardialer Hypertrophie und Dilatation (33, 34).

#### NPR-B:

Der Rezeptor NPR-B besteht aus 1.047 Aminosäuren. Die größte Bindungsaffinität besteht für CNP, obwohl auch ANP und BNP an die extrazelluläre Domäne binden können, allerdings mit wesentlich geringerer Affinität (35). Die cDNA und die Aminosäuresequenz des menschlichen NPR-B sind bekannt (36). An der extrazellulären Domäne im Bereich der Ligandenbindungsstelle besteht zwischen NPR-A und NPR-B eine Homologie von 44 Prozent.

Das NPR-B-Gen liegt beim Menschen auf dem Chromosom 9p21-p12 und breitet sich über etwa 16,5 kb aus. Es besteht ebenfalls aus 22 Exons (9). Es wird hauptsächlich im Gehirn exprimiert – inklusive der Hirnanhangsdrüse – und spielt wahrscheinlich eine wichtige Rolle in der neuroendokrinen Regulation (9). Die Phosphorylierung von bis zu fünf Aminosäuren an der kinasehomologen Domäne der zytoplasmatischen Seite scheint für die Rezeptoraktivierung ausschlaggebend zu sein (37).

#### NPR-C:

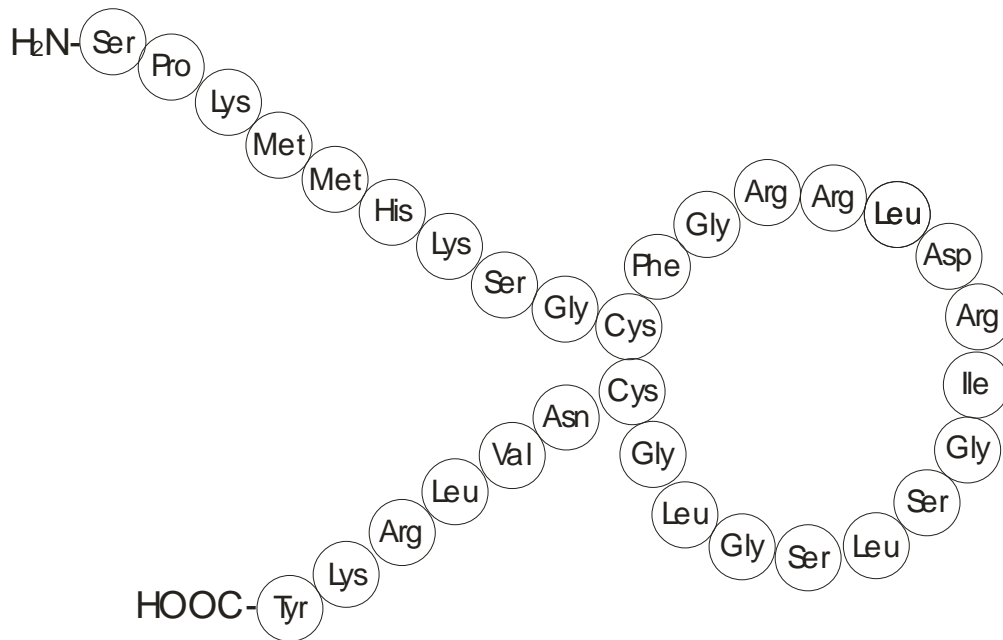
An den NPR-C binden ANP, CNP und BNP in genannter Reihenfolge mit absteigender Affinität (12, 38). Nachdem ein Peptid an den Rezeptor gebunden hat, wird es abgebaut (9). Das NPR-C-Gen ist beim Menschen auf dem Chromosom 5p14-p13 lokalisiert und kodiert ein Peptid aus 540 Aminosäuren. Der NPR-C besteht als Homodimer, das durch eine Disulfidbrücke verbunden ist. Er ist der am häufigsten exprimierte NPR mit einer weiten Verteilung in Geweben, hauptsächlich in endokrinen Drüsen, in der Lunge, den Nieren und der Vaskulatur (9).

Bei Knock-out-Mäusen, denen das NPR-C-Gen fehlt, kommt es zu einer verlängerten Lebensdauer des endogenen ANP, zu einer geringen Blutdrucksenkung, zu einer geringgradig erhöhten Urin-Ausscheidung und zu einem erhöhten Knochen-Remodelling, das zu Knochen-Deformationen führt (29). Beim Schaf konnte durch Rezeptorblockade gezeigt werden, dass sowohl ANP als auch BNP mit der gleichen Affinität an den NPR-C binden (39). Allerdings muss beachtet werden, dass bei anderen Spezies die Auswirkungen einer NPR-C- und NEP-Blockade nicht den Verhältnissen beim Schaf entsprechen müssen, da hier die Bindungsaffinität von ANP und BNP zum Rezeptor unterschiedlich sein kann und die neutrale Endopeptidase den speziesspezifischen natriuretischen Peptiden dementsprechend angepasst ist (40-42).

## 2.3 BNP

Die biologisch aktive Form des BNP besteht aus 32 Aminosäuren. Ein Ring aus 17 Aminosäuren wird über eine Disulfidbrücke zwischen zwei Cysteinen geschlossen. Die Aminosäuresequenz ist zwischen verschiedenen Spezies hochkonserviert.

### Struktur des Brain Natriuretic Peptide



**Abbildung 1: Struktur und Aminosäuresequenz des Brain Natriuretic Peptide**

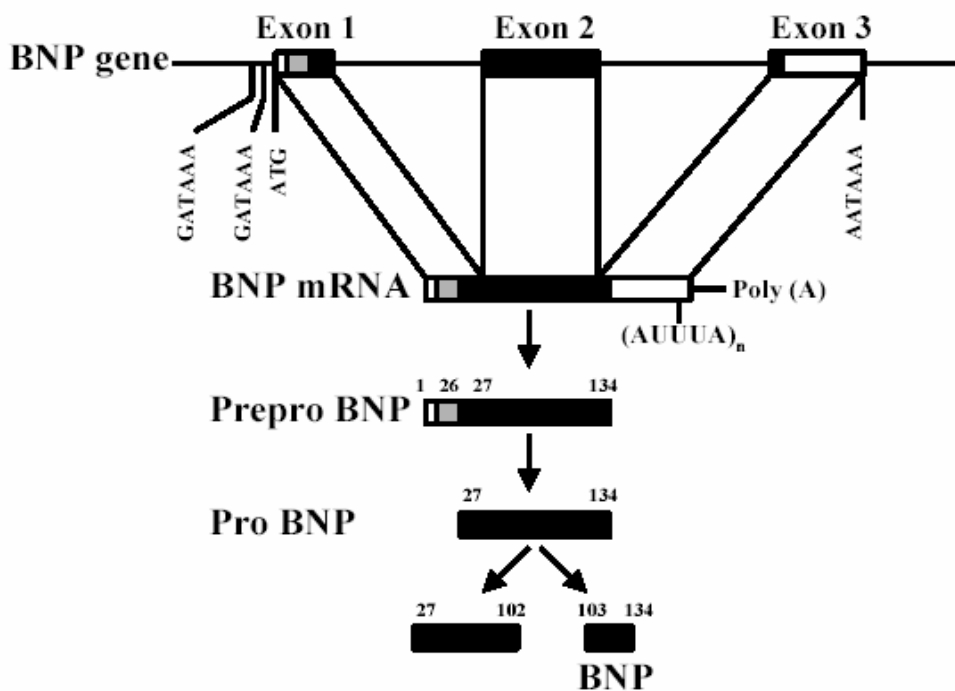
Modifiziert nach Nakao et al. (1992) (43, 44)

### 2.3.1 Genetische Grundlagen

BNP konnte im Jahr 1988 erstmals aus Schweinegehirnen isoliert werden (1, 2). Unter Verwendung des porcinen BNP als Screening-Probe wurde die cDNA des BNP isoliert und sequenziert (45). Die Homologie der Gene, die für das Brain Natriuretic Peptide kodieren, ist zwischen den bislang untersuchten Säugetierspezies hochkonserviert. Bislang wurden Menschen, Hunde, Rinder, Schweine, Schafe, Katzen, Mäuse und Ratten in diese Untersuchungen einbezogen (46, 47).

Beim Menschen sind die genetischen Grundlagen von BNP umfangreich untersucht. Sein Gen besteht aus 2 Exons und einem Intron und kodiert für die BNP mRNA des Vorläuferpeptids PräProBNP oder NT-BNP. Es ist im Chromosom 1p36.2 lokalisiert und befindet sich etwa 8 kb oberhalb (upstream) des NPPA-Gens (9), das für das Vorläuferpeptid von ANP kodiert (48). Die Vorläuferpeptide von ANP und BNP sind beim Menschen gemeinsam auf dem Chromosom 1p36.2 kodiert (9). Nach der Translation werden aus den 134 Aminosäuren des PräProBNP 26 Aminosäuren abgespalten, das ProBNP entsteht (43). Nach einer weiteren Abspaltung von 76 Aminosäuren entsteht schließlich das biologisch aktive 32-Aminosäuren-BNP (9).

Transkription und Splicing - modifiziert nach Nakao et al. (1992) (43, 44)



**Abbildung 2: Transkription und Splicing von BNP**

Auch für den Hund sind die Basen- und die Aminosäuresequenz von BNP mittlerweile bekannt. Die cDNA-Sequenz von kaninem BNP konnte 1999 von Asano et al. bestimmt werden. Sie besteht aus 420 Basenpaaren und kodiert für 140 Aminosäuren (20).



### **2.3.2 Genexpression und Ausschüttung von BNP**

Auf zellulärer Ebene reagiert das Herz auf eine Kombination von mechanischen und neurohumoralen Stimuli mit Hypertrophie. Es konnte noch nicht eindeutig geklärt werden, ob eine mechanische Dehnung auch direkt – oder nur indirekt über parakrine Faktoren - eine Hypertrophie der kardialen Myozyten verursacht.

Eine mechanische Dehnung der Myozyten stimuliert die Produktion und Sekretion von Stoffen, die den Wachstumsprozess der Myokardzellen vermitteln (49, 50). Für Endothelin I und Angiotensin II ist nachgewiesen, dass sie den mechanischen Stimulus einer Dehnung der Myozyten in einen endokrinen Stimulus verwandeln können und ihre Information auf intrazellulärer Ebene weitergeben. Auch BNP wird als Antwort auf einen mechanischen (hämodynamischen) (49) oder neuroendokrinen Stimulus (51) ausgeschüttet, meist auf eine Kombination der beiden. Da BNP an vielen verschiedenen Orten und Organen seine Wirkung entfaltet, kann es sowohl über schnelle als auch über langsame Mechanismen in die kardiovaskuläre Homöostase eingreifen.

#### **2.3.2.1 Mechanische Faktoren**

Die Transkription der BNP- und ANP-Gene ist deutlich erhöht bei Patienten mit chronisch kongestivem Herzversagen sowie im Tiermodell bei ventrikulärer Hypertrophie oder Kardiomyopathie. Am linken Ventrikel können unter diesen Umständen eine Dilatation und eine verminderte Relaxation (diastolische Dysfunktion) ebenso festgestellt werden wie eine verminderte Kontraktilität (systolische Dysfunktion) (52, 53). Die Konzentration der BNP mRNA in den kardialen Myozyten steigt proportional zum Maß der ventrikulären Volumenüberlastung (54, 55). Der mechanische Stimulus, hervorgerufen durch die Dehnung der Myozyten, ist unter diesen Bedingungen die Hauptursache für eine erhöhte BNP-mRNA-Expression (51, 56).

Die Expression der ANP- und BNP-Gene wird unabhängig voneinander reguliert (57, 58). Im Tierversuch konnte beim Schwein nachgewiesen werden, dass sich beim kongestiven Herzversagen der Ort der BNP-Synthese vom Ort der ANP-Synthese unterscheidet. Die Konzentration von BNP im Gewebe war unter diesen Umständen in allen kardialen Regionen deutlich erhöht, insbesondere im linken Ventrikel. ANP hingegen wird sowohl beim gesunden Tier als auch beim Schwein mit kongestivem Herzversagen hauptsächlich in den Atrien synthetisiert (59).

Bei gesunden Hunden und in frühen Stadien der Herzinsuffizienz sind die Verhältnisse komplexer, die zu einer gesteigerten BNP-Produktion führen. Eine mRNA-Expression von BNP konnte beim gesunden Hund nur in den Atrien nachgewiesen werden, jedoch weder in den Ventrikeln, noch in anderen Geweben (20, 56).

Frühe Stadien von linksventrikulärer Dysfunktion sind gekennzeichnet durch eine exzentrische Ventrikeldilatation, verminderte systolische Funktion und unveränderten arteriellen Blutdruck. Zu diesem Zeitpunkt steigt die Konzentration von BNP mRNA und Gewebe-BNP in den Atrien deutlich an. Auch die Plasmakonzentration von BNP ist unter diesen Bedingungen messbar erhöht. Im Gegensatz hierzu lässt sich die Konzentration von BNP im Gewebe des linken Ventrikels nicht – oder nur knapp oberhalb der unteren Messbereichsgrenze – bestimmen. Im Vergleich zu den ventrikulären Myozyten spielen die atrialen Myozyten in diesen frühen Stadien der Herzinsuffizienz eine herausragende Rolle bei der BNP-Produktion (56).

Nach artifizieller akuter Volumenüberlastung konnte beim Hund keine signifikante Erhöhung der BNP-Plasmakonzentration festgestellt werden (60).

Bei Hunden mit chronischem Herzversagen kommt es zu einer weiteren linksventrikulären Dilatation und einer weiteren Verschlechterung der systolischen und diastolischen Ventrikelfunktion. Der mittlere arterielle Blutdruck sinkt messbar ab. Auch eine erhöhte Reninkonzentration im Plasma kann gemessen werden. Ferner lässt sich ein weiterer Anstieg der Konzentration von BNP mRNA im Myokard sowie von freiem BNP im Plasma nachweisen. Beim chronischen Herzversagen ist nun erstmalig auch die Konzentration von BNP im linken Ventrikel messbar erhöht (19, 20, 56).

Bei dekompensiertem Herzversagen wird die Expression von BNP im linken Ventrikel zunehmend gesteigert (61). Der Schweregrad der ventrikulären Volumenüberlastung korreliert auch beim Hund mit der Höhe der BNP-Plasmakonzentration (52). Ähnliche Verhältnisse lassen sich nach einer ischämischen Schädigung des Ventrikelmyokards beobachten. In der Infarktregion ist die mRNA-Expression deutlich erhöht (20). Eine Erhöhung der BNP-Genexpression findet innerhalb einer Stunde nach einem entsprechenden Stimulus statt (62). Die Problematik des Herzinfarktes spielt in der Humanmedizin eine wesentlich größere Rolle als beim Tier, dem ein Myokardinfarkt oft nur artifiziell und zu Studienzwecken zugefügt

wird. Beim Menschen sind Synthese und Sekretion von BNP – wie auch von ANP – nicht nur bei chronischen Stauungserscheinungen erhöht, sondern auch in frühen Stadien des akuten Myokardinfarkts. Auch hier kann vor allem in der Infarktregion eine deutlich höhere Konzentration von Gewebe-BNP gemessen werden als in den Arealen, die nicht von der Schädigung betroffen sind (63).

### **2.3.2.2 Parakrine Faktoren**

#### **Endothelin I (ET-1)**

In frühen Stadien der Herzinsuffizienz kann der mechanische Stimulus über eine Dehnung der Myozyten nicht allein verantwortlich sein für die BNP-mRNA-Erhöhung und somit auch nicht für die BNP-Synthese. Wäre dies der Fall, müsste die Konzentration von BNP im Ventrikelmyokard schon in früheren Stadien der Herzinsuffizienz deutlicher ansteigen. Bereits hier liegt nämlich eine mechanische Dehnung vor und infolge dessen eine Dilatation der Ventrikel (56). Möglicherweise spielt auch die zusätzliche Aktivierung von lokalem und zirkulierendem Endothelin I eine entscheidende Rolle. Für Endothelin I konnte in einer Zellkultur aus Ventrikelmyozyten gezeigt werden, dass es die Erhöhung des BNP-mRNA-Spiegels direkt durch Aktivierung des BNP-Promotors und somit der BNP-Transkription induziert (51, 56, 57).

Endothelin I wird hauptsächlich vom vaskulären Endothel gebildet. Eine Produktion findet jedoch auch in kardialen Myozyten, im zentralen Nervensystem und in den Nieren statt. Endothelin I hat verschiedene biologische Funktionen, die über zwei Rezeptoren vermittelt werden: den Endothelinrezeptor-A (ET-A) und den Endothelinrezeptor-B (ET-B). Der Endothelinrezeptor-A bindet hauptsächlich ET-1. Er ist auf Zellen der glatten Gefäßmuskulatur und anderen Zelltypen lokalisiert, nicht aber auf Endothelzellen. Beide Rezeptoren sind an die Phospholipase C gekoppelt und vermitteln über eine Erhöhung des intrazellulären Calciums an der glatten Gefäßmuskulatur eine Vasokonstriktion. In Endothelzellen hingegen führt eine Stimulation des Endothelinrezeptor-B zu einer Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) und somit zu einer ausgeprägten Vasodilatation (64, 65).

ET-1 hat eine sehr potente und lang anhaltende vasokonstriktorische Wirkung. Die vasokonstriktorische Potenz des Endothelin I ist etwa zehnmal größer als die des Angiotensin II (65). Endothelin I vermittelt positive Inotropie und Chronotropie und greift modulierend in den Elektrolyt- und Wasserhaushalt ein. Es gibt vermehrt Hinweise, dass endogenes Endothe-

lin I auch in der Pathophysiologie des Herzversagens eine Rolle spielt. Bei Patienten mit dekompensiertem Herzversagen ist die Plasmakonzentration von ET-1 im Verhältnis zu gesunden Probanden deutlich erhöht (64). Dies wird verursacht durch eine erhöhte Produktion von ET-1 in kardialen Myozyten – unter pathologischen Bedingungen wie einer Hypertrophie als Folge einer Drucküberlastung –, bei kongestivem Herzversagen sowie dilatativer Kardiomyopathie (66-69). Endothelin I spielt auch im kardialen Remodelling eine bedeutende Rolle, vermutlich durch seine Eigenschaft als Wachstumsfaktor (70).

Eine Erhöhung der Endothelin-I-Konzentration hat, wie beschrieben, eine Erhöhung der BNP-Transkription zur Folge. Da sich beide Proteine im Organismus wie Gegenspieler verhalten (4, 71, 72), ist der Mechanismus, dass Endothelin I die Plasmakonzentration von BNP steigert, möglicherweise als Feed-back-Mechanismus anzusehen, bei dem einer übermäßigen Einwirkung von Aldosteron II und Endothelin I entgegengewirkt wird.

## **Angiotensin II**

Das Renin-Angiotensin-Aldosteronsystem (RAAS) spielt eine der wichtigsten Rollen bei der Regulation von Flüssigkeitshaushalt und Blutdruck. Die endokrinen Komponenten des RAAS bestehen aus Renin, Angiotensinogen, Angiotensin I und II, dem Angiotensin Converting Enzyme und Aldosteron. Verschiedene Stimuli führen zur Ausschüttung von Renin aus den Granulazellen des juxtamedullären Apparates in die Blutzirkulation. Dazu gehören vor allem ein verminderter renaler Blutfluss, wie er bei einer systemischen Hypotonie vorkommt, eine erniedrigte Natrium-Plasmakonzentration und eine  $\beta$ -adrenerge Stimulation.

Renin spaltet vom Angiotensinogen ein Dekapeptid ab, wobei Angiotensin I gebildet wird. Davon werden durch das Angiotensin Converting Enzyme weitere zwei Aminosäuren abgespalten. Das aus diesem Prozess hervorgehende Angiotensin II ist eine der potentesten vasokonstriktorisches Substanzen des Organismus und vermittelt eine Steigerung des systemischen Blutdrucks. Weiterhin potenziert es im Hypothalamus den Durstmechanismus und den Salzappetit. An der Niere führt die lokale Vasokonstriktion am Vas afferens zu einer Erniedrigung der glomerulären Filtrationsrate und somit zu einer verminderten Natrium- und Wasserausscheidung.

Auch am Herzen sind Rezeptoren für Angiotensin II nachgewiesen. Am kranken Herzen ist die Wirkung oft schädlich, die über die verschiedenen Subtypen der Angiotensin-II-

Rezeptoren – AT1 und AT2 – vermittelt wird. Die Effekte des Angiotensin II auf das Herz werden hauptsächlich über den AT1 vermittelt (73, 74). Es werden eine positive Chronotropie und Inotropie vermittelt. Weiterhin kommt es am Herzen zu einer gesteigerten Hypertrophie der Myozyten und vermehrter interstitieller Fibrose. Die Herzfunktion wird von Angiotensin sowohl über die Stimulation der Freisetzung von Aldosteron beeinflusst als auch durch Modulation des sympathischen Tonus. Aldosteron hat ebenfalls bedeutende Effekte auf den Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushalt. Es erhöht die Natriumrückresorption und verstärkt die Kaliumausscheidung über eine Blockade des Na-K-Austauschs (74, 75).

Angiotensin II hat auf die Regulation der BNP-Genexpression eine bedeutende Wirkung. In einer Zellkultur mit menschlichen atrialen und ventrikulären Myozyten konnte gezeigt werden, dass die BNP-Genexpression durch Angiotensin II beeinflusst wird (76). Das lokal produzierte Angiotensin II steigert die Bildung von Endothelin I, welches dann eine transkriptionale Aktivierung sowie eine gesteigerte BNP-Expression vermittelt (77).

### **Katecholamine**

Auch Katecholamine spielen in der Pathophysiologie des Herz-Kreislaufsystems eine bedeutende Rolle. Sie haben positiv chronotrope und inotrope Wirkung und stimulieren den kardialen Metabolismus. Eine Stimulation von alpha- und beta-Rezeptoren vermittelt kardiale Hypertrophie. Für Phenylephedrin, einen selektiven alpha-Rezeptor-Agonisten, konnte gezeigt werden, dass auch er direkt die BNP-Genexpression aktiviert (78, 79).

### **2.3.3 Freisetzung von BNP**

Bei der Ratte konnte BNP mittels Radioimmunoassay in den Atrien und Ventrikeln des Herzens und im Plasma nachgewiesen werden. Mittels Chromatographie und Immunoblotting wurde BNP zusammen mit ANP in atrialen Sekretionsgranula gefunden. Hauptsächlich befand sich BNP in perinukleären Regionen atrialer Myozyten (80). Die Freisetzung von BNP ist aber nicht an die Freisetzung von ANP gebunden. Die Sekretion beider Proteine ist vielmehr vom Stimulus abhängig (51, 81).

Es gibt Hinweise, dass auch PräProBNP aktiv vom Herzen sezerniert wird. PräProBNP kann im kardialen Gewebeextrakt nachgewiesen werden und erscheint mit zunehmender linksventrikulärer Dysfunktion vermehrt im Plasma (82).

### **2.3.4 Metabolismus von BNP**

Die Regulation der Plasmakonzentration von BNP findet hauptsächlich über seine Synthese und Freisetzung statt, jedoch ist auch sein Abbau von entscheidender Bedeutung (83). Für den Metabolismus von BNP gibt es – wie auch für ANP – hauptsächlich zwei Abbauwege. BNP wird enzymatisch oder nach rezeptorvermittelter Endozytose abgebaut.

#### **Neutrale Endopeptidase**

BNP kann enzymatisch mittels der neutralen Endopeptidase (NEP) 24.11 abgebaut werden (44, 84). Die NEP 24.11 ist in den Körpergeweben weit verbreitet, lässt sich aber in besonders hoher Konzentration in der Bürstensaummembran der proximalen Nierentubuli nachweisen (85). Weiterhin kann die NEP 24.11 im zentralen Nervensystem, in der Lunge, in den Lymphknoten und im Darmtrakt nachgewiesen werden. Sie ist eine zinkabhängige, membranbundene Endopeptidase, die in ihrer stereochemischen Erscheinung sehr dem Angiotensin Converting Enzyme ähnelt. Ihre aktive Seite ist auf der Zelloberfläche lokalisiert (86).

#### **Natriuretischer Peptidrezeptor C**

Auch über den natriuretischen Peptidrezeptor C (NPR-C) wird das Protein abgebaut. Nach einer Bindung an den Rezeptor kommt es zu einer rezeptorvermittelten Endozytose (44). Der NPR-C ist der im Körper am weitesten verbreitete natriuretische Peptidrezeptor. Er lässt sich in vielen Geweben nachweisen, vor allem aber im Gefäßendothel, in der glatten Muskulatur, im Herzen, in den Nebennieren und in den Nieren (40, 87).

Zahlreiche Studien haben sich mit den Auswirkungen einer Blockierung dieser Abbauwege beschäftigt. Gerade hier liegen auch viele Ansatzpunkte für neue Therapiemöglichkeiten bei chronischen Herzinsuffizienzen. Bei einer Studie mit gesunden Schafen sowie Schafen mit induziertem kongestivem Herzversagen konnte gezeigt werden, dass eine intravenöse Applikation von SCH-32615 und C-ANP-(4-23) zu einer dosisabhängigen Steigerung der Plasmakonzentration von BNP, ANP und cGMP führt. SCH-32615 ist ein spezifischer NEP-Hemmer, C-ANP-(4-23) ein spezifischer NPR-C Ligand (83). Beide Pharmaka führten weiterhin zu einem erhöhten Urinvolumen und zu einer Steigerung der Natrium-, Kalium- und Kreatininausscheidung im Urin (83).

Ob nun die NEP oder der NPR-C eine größere Auswirkung auf die Degradation der natriuretischen Peptide beim gesunden Tier hat – und somit auch auf ihre Konzentration im Plasma –

ist nicht für alle Spezies vollständig geklärt. Beispielsweise konnte bei der Ratte für ANP (rANP) gezeigt werden, dass unter den Bedingungen eines erhöhten Plasmaspiegels – wie er bei einem kongestiven Herzversagen vorkommt – der Clearance-Rezeptor eine geringere Rolle im Metabolismus dieses Peptids spielt als die neutrale Endopeptidase. Dies hängt vermutlich damit zusammen, dass die Clearance-Rezeptoren bei erhöhter Konzentration der natriuretischen Peptide im Plasma häufiger besetzt sind als bei niedrigen Konzentrationen und somit weniger in den Metabolismus eingreifen können (88, 89). Ebenso gibt es Hinweise darauf, dass der NPR-C-Rezeptor unter den Bedingungen von anhaltend hoher Plasmakonzentration von rANP herunterreguliert wird (90). Bezüglich BNP konnte bei der Ratte kein signifikanter Unterschied zwischen dem Abbau mittels der NEP und dem NPR-C festgestellt werden (89). Dieser Sachverhalt zeigt eine unterschiedliche Pharmakokinetik von ANP und BNP bei der Ratte.

Bei anderen Spezies, wie beim Schaf, scheinen die Verhältnisse wiederum anders zu sein. Bei gesunden Schafen und bei Schafen mit induziertem Herzversagen gelten für den Metabolismus ANP und BNP die gleichen Verhältnisse, trotz ihrer unterschiedlich hohen Plasmakonzentration. Es besteht keine signifikant unterschiedliche Auswirkung zwischen der Blockade des NPR-C-Rezeptors oder der NEP auf die Plasmakonzentration der Peptide. Beide Abbauewege sind – unabhängig von der zirkulierenden Plasmakonzentration der Peptide – von gleicher Wichtigkeit (83).

Zu anderen Ergebnissen kommt man, wenn man die diuretische und natriuretische Antwort des Körpers auf eine Abbauehemmung der Peptide betrachtet. Nach der Applikation des NEP-Hemmers konnte bei Schafen eine deutlichere Diurese und Natriurese beobachtet werden als nach der Gabe von C-ANP-(4-23). Vermutlich bewirkt eine Hemmung der NEP nicht nur eine Steigerung der Plasmakonzentration von ANP und BNP, sondern erhöht vor allem auch deren lokale Konzentration in den proximalen Tubuli der Niere und bewirkt somit eine direkte Steigerung von Diurese und Natriurese.

### **2.3.5 Wirkung im Organismus**

Die Plasma-Halbwertszeit und die Volumendistribution des BNP sind deutlich länger und größer als die des ANP. Ihre Rollen bezüglich Flüssigkeitsvolumen und Blutdruckregelung mögen daher von unterschiedlicher Bedeutung sein (91). BNP vermittelt seine Wirkung im Organismus über den natriuretischen Peptidrezeptor A. Nach einer Bindung an die extrazelluläre Domäne findet auf der zytoplasmatischen Seite eine Phosphorylierung an bis zu sechs Aminosäuren statt (32). Die Information wird schließlich über den second messenger cGMP (zyklisches Guanosin-3',5'-monophosphat) weitergegeben (60).

BNP induziert eine potente Natriurese und Diurese und gilt als bedeutender physiologischer Gegenspieler des Renin-Angiotensin-Aldosteronsystems (3). BNP verursacht nach Infusion in verschiedenen Konzentrationen eine dosisabhängige Steigerung der Urinproduktion und der Natriurese (92). Auch sein Potential als Vasodilatator und seine antifibrotische Wirkung sind umfassend beschrieben (93). Die Ausscheidung von cGMP, Natrium und Chlor im Urin (4) steigen nach einer BNP-Applikation dosisabhängig an (71).

#### **Natriurese und Diurese**

Die durch BNP vermittelte Natriurese lässt sich auf verminderte tubuläre Rückresorption von Natrium zurückführen. Eine verminderte Natriumrückresorption findet in den proximalen und distalen Tubuli statt (94). Vor allem die distalen Tubuli und das Glomerulum (95) sind dicht mit natriuretischen Peptidrezeptoren besetzt. An den proximalen Tubuli kann es durch einen erhöhten renalen Blutfluss zu einer Veränderung des peritubulären Kapillardruckes kommen, wodurch eine Verminderung der Rückresorption von Natrium im proximalen Tubulussystem bewirkt wird. Auch die Erhöhung der Gefäßspannung an den efferenten Arteriolen in Verbindung mit einer Dilatation der afferenten Arteriolen trägt zur Natriurese bei (94, 96). Weiterhin verändern die natriuretischen Peptide die Kaliumleitfähigkeit an der Zellmembran. Dies führt zu einem verminderten Natriumtransport durch die Zellmembran. Einen wesentlich größeren Einfluss als das BNP auf den Natriumtransport hat das ANP; es vermittelt somit eine deutlichere Natriurese (35).

#### **Renin-Angiotensin-Aldosteronsystem**

BNP gilt als bedeutender physiologischer Gegenspieler des Renin-Angiotensin-Aldosteronsystems (3, 92). BNP inhibiert die Ausschüttung des Aldosterons hauptsächlich über natriuretische Peptidrezeptoren-A in der Nebenniere (40).



Allerdings gab es in verschiedenen Studien unterschiedliche Ergebnisse bezüglich seiner Potenz zur Absenkung des Renin- und Aldosteronspiegels.

BNP verhindert die Reninsekretion über einen Natriumaustausch an der Macula densa (97). Akabane et al. (1991) konnten zeigen, dass BNP effektiv den tubuloglomerulären Feedback-Mechanismus inhibiert, der nach intrarenaler Infusion von hypertoner Natriumlösung entsteht (97). Nach einer Infusion von BNP im Versuch mit Hunden war die Plasmareninaktivität signifikant vermindert (92).

Eine BNP-Infusion (2 pmol/min/kg) über zwei Stunden konnte bei Menschen mit essentieller Hypertonie im Vergleich zur Placebo-Gruppe die Plasmaaldosteron-Konzentration um bis zu 50 Prozent senken (72). Auch bei Patienten mit kongestivem Herzversagen (4) sowie bei einer gesunden Kontrollgruppe (71) konnten inhibierende Effekte auf das RAAS festgestellt werden. Lainchbury et al. (1997) konnten dies bei einer Studie mit acht Patienten allerdings nicht bestätigen. Für den Plasmaspiegel von Renin, Aldosteron und Katecholaminen konnte nach einer Infusion von 3 pmol/min/kg über vier Stunden keine Veränderung festgestellt werden. Auch Studien bei Schafen haben zu kontroverser Diskussion geführt. Nach einer Infusion von 0,5 pmol/min/kg über vier Tage konnte keine Absenkung der Plasmaaldosteron-Konzentration beobachtet werden (98). Dagegen stellten Charles et al. (1993) fest, dass alle drei natriuretischen Peptide zu einer Erniedrigung des Aldosteronspiegels führen (30). Ursachen für diese unterschiedlichen Literaturangaben könnten – abgesehen von den verschiedenen Krankheitsbildern und Spezies – auch die unterschiedlich große infundierte Menge von BNP sowie die unterschiedliche Dauer der Infusion sein.

Auch beim Hund gibt es unterschiedliche Literaturangaben. Clavell et al. (1993) konnten keine Inhibition des RAAS feststellen (99). Dagegen steht eine Untersuchung durch Grantham et al. (1997), bei der Hunden mit akutem Herzversagen BNP appliziert wurde. Dadurch konnte der Erhöhung der Plasmarenin-Konzentration vorgebeugt werden, die durch das akute Herzversagen hervorgerufen wurde (94).

## **Blutdruck**

Die Auswirkung von BNP auf den systemischen Blutdruck wird ebenfalls kontrovers diskutiert. So konnten Richards et al. (1993) zeigen, dass eine Infusion von BNP (2 pmol/min/kg) bei Menschen mit essentieller Hypertonie keine Veränderung von Blutdruck und Herzfrequenz hervorruft (72). Lainchbury et al. (1997) zeigten, dass es nach einer BNP-Infusion mit niedriger Dosis (3,3 pmol/min/kg), wie sie etwa im Plasma bei Menschen mit geringem bis schwerem Herzversagen vorkommt, zu einer Erniedrigung des systemischen arteriellen Blutdrucks sowie des systemischen vaskulären Widerstands kommt (4, 100). Die Auswurfleistung und die Herzfrequenz bleiben bei Patienten mit Hypertonie unverändert (100) und steigen bei Patienten mit kongestivem Herzversagen an. Grund ist die durch Vasodilatation und Natriuresis verbesserte linksventrikuläre Funktion (4). Charles et al. (1998) konnten beim Schaf demonstrieren, dass eine Infusion von BNP (0,5 pmol/min/kg) eine deutliche und signifikante Absenkung des rechtsatrialen Druckes bewirkt. Verbunden ist dieser Effekt mit einer Erniedrigung des Schlagvolumens und der kardialen Auswurfleistung. Auch hier war ein deutlicher Anstieg der cGMP-Plasmakonzentration zu beobachten (98). Beim Hund erniedrigt BNP dosisabhängig den arteriellen und linksatrialen Druck und erhöht die Herzfrequenz, das Auswurfvolumen und den renalen Blutfluss (101).

## **Nachlast**

Der endsystolische Druck und das endsystolische Volumen gelten als Indizes der Nachlast (Afterload), wobei die Nachlast definitionsgemäß die Kraft ist, die vom Ventrikel während der Systole aufgebracht wird. Die Nachlast hängt hauptsächlich vom peripheren Widerstand des großen und kleinen Kreislaufs ab. Ein hoher endsystolischer Druck und ein erhöhtes endsystolisches Volumen lassen auf eine erhöhte Nachlast schließen. Sowohl beim gesunden Hund als auch beim Hund mit Herzversagen erniedrigt BNP neben dem endsystolischen Druck auch das endsystolische Volumen, ohne einen Einfluss auf den arteriellen Gefäßwiderstand zu haben. Dies lässt auf eine Verminderung der Wandspannung unter BNP-Einfluss schließen. BNP kann somit als Nachlastsenker gelten (6, 92).

## **Vorlast**

Die Vorlast ist definiert als die Kraft, die am Ende der Diastole die entspannte Ventrikelwand dehnt und damit die Sarkomerlänge der Herzmuskelfasern vor der Kontraktion bestimmt. Als Indizes der Vorlast (Preload) gelten der enddiastolische Druck und das enddiastolische Volumen. BNP erniedrigt sowohl beim gesunden Hund als auch beim Hund mit Herzversagen die

Vorlast. Nach Applikation von BNP über eine intravenöse Infusion waren sowohl der enddiastolische Druck als auch das enddiastolische Volumen verringert (6, 92).

### **Antifibrotische Wirkung**

Als kardiale Fibrose beschreibt man einen Prozess, der mit einer Proliferation von interstitiellen Fibroblasten und einer Biosynthese von extrazellulären Matrixkomponenten einhergeht, einschließlich Kollagen in den Herzventrikeln. Sie tritt als Folge des Remodellingprozesses am Herzen auf, der durch pathologische Volumen- oder Drucküberlastung induziert wird. Es kommt hierbei zu erhöhter Ventrikelsteifheit und letztlich auch zu ventrikulärer Dysfunktion (5).

Im Versuch mit Mäusen hat sich gezeigt, dass BNP antifibrotische Wirkung besitzt. Mäusen wurde gezielt die für BNP kodierende Gensequenz entnommen. Obwohl bei diesen Tieren kein systemischer Bluthochdruck und keine ventrikuläre Hypertrophie festgestellt werden konnte, kam es zu multifokalen fibrotischen Läsionen in den Ventrikeln. Als Antwort auf den artifiziell erhöhten intraventrikulären Druck wuchsen die fokalen Läsionen im Ventrikelmyokard in Zahl und Größe. Bei Mäusen hingegen, bei denen es zu einer normalen Genexpression von BNP kommt, wurden keine fibrotischen Veränderungen im Ventrikelmyokard festgestellt. Demzufolge kann BNP als antifibrotischer Faktor gelten. Weiterhin gibt diese Studie Hinweise darauf, dass BNP als lokaler Regulator von ventrikulärem Remodelling eine bedeutende Rolle spielt (5).

### **Inotropie**

Bei Hunden mit Herzversagen konnte für BNP kein negativ inotroper Effekt festgestellt werden (6). Es schwächt die positiv inotrope Antwort des Herzens auf eine Dobutamininfusion nicht ab (102). An isolierten Atrien und Ventrikeln vom Hund hat BNP weder einen Einfluss auf die Inotropie noch auf die Chronotropie (103).

### **Sympathisches Nervensystem**

BNP hat am Herzen sympathoinhibitorische Effekte. Eine Inhibition der Sympathikusinnervation am Herzen tritt auch unter physiologischer Konzentration von BNP ein. Obwohl unter BNP-Wirkung der arterielle Blutdruck und dadurch auch der kardiale Füllungsdruck abfallen, findet keine reflektorische sympathische Stimulierung statt (104, 105).

## **2.4 BNP beim Herzversagen**

Ausführliche Untersuchungen der natriuretischen Peptide sollten zeigen, ob sie sich als Marker sowie für die Prognose von kardiovaskulären Krankheiten eignen (17, 106). Die Peptide werden vor allem beim Herzversagen frühzeitig aktiviert.

Die BNP-Plasmakonzentration korreliert deutlich mit hämodynamischen Parametern wie Herzfrequenz, rechtsatrialem Druck, pulmonarem Kapillarbettdruck (PCWP, pulmonary capillary wedge pressure) und dem mittleren arteriellen Druck (106). Beim Menschen haben Studien bereits bewiesen, dass vor allem die Konzentration von BNP deutlich erhöht ist bei symptomlosen Patienten mit linksventrikulärer systolischer und diastolischer Dysfunktion, bei Patienten mit Bluthochdruck oder ventrikulärer Hypertrophie (verursacht durch pulmonalen Hochdruck) und bei Patienten mit Kardiomyopathie und kongestiver Herzinsuffizienz (16, 52, 55, 107-109). Die BNP-Plasmakonzentration korreliert mit dem Schweregrad der Herzkrankheit, wenn deren Einteilung nach Klassifizierung der New York Heart Association vorgenommen wird (110). Weiterhin ist eine erhöhte Plasmakonzentration von BNP ein exzellenter Indikator zur Unterscheidung von primär kardial oder nicht-kardial bedingter Atemnot (7).

### **2.4.1 Systolische Dysfunktion**

Für die Diagnose einer verminderten linksventrikulären systolischen Dysfunktion – auch nach einem Myokardinfarkt – ist die Bestimmung des BNP als Indikator der Bestimmung des C-ANP und des N-ANP, der Krankengeschichte des Patienten oder der klinischen Untersuchung überlegen (52, 111, 112). Bei Menschen mit isolierter linksventrikulärer systolischer Dysfunktion war der gemessene BNP-Wert deutlich höher als bei Patienten mit isolierter diastolischer Dysfunktion. Bei beiden Patientengruppen konnte im Vergleich zu Patienten mit normaler linksventrikulärer Funktion ein signifikant höherer BNP-Plasmaspiegel festgestellt werden (113).

### **2.4.2 Diastolische Dysfunktion**

Als Marker für die diastolische Dysfunktion des linken Ventrikels ist BNP ebenfalls geeignet. Es kann eine herabgesetzte Relaxationsfähigkeit der Ventrikel mit guter Sensitivität und Spezifität aufdecken. Ebenfalls ist BNP ein sehr guter Indikator für eine verminderte Auswurfleistung und einen erhöhten Massenindex. BNP kann die strukturellen und funktionellen Abnormalitäten des linken Ventrikels sehr gut reflektieren, abnormale Füllungskonditionen dagegen kann es weniger gut anzeigen (52).

### **2.4.3 Hypertonie und ventrikuläre Hypertrophie**

Bei Patienten mit Hypertonie korreliert die BNP-Plasmakonzentration sehr gut mit dem linksventrikulären Massenindex. Gerade bei dieser Patientengruppe stellt die linksventrikuläre Hypertrophie einen potentiellen Risikofaktor für die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität dar (114, 115). Auch hier zeigt sich, dass BNP als Indikator für eine linksventrikuläre Hypertrophie in Sensitivität und Spezifität dem C-ANP und N-ANP überlegen ist (52).

### **2.4.4 Kardiomyopathien**

Beim Menschen korreliert BNP signifikant und negativ mit der linksventrikulären Auswurfleistung (ejection fraction) (116) und ist bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie im Ventrikelmyokard nachweislich erhöht (81). Weiterhin hat sich bei Untersuchungen am Menschen herausgestellt, dass die Plasmakonzentration von BNP im Zusammenhang mit einer dilatativen Kardiomyopathie signifikant höher ist als bei Patienten mit Mitralstenose. Bei der dilatativen Kardiomyopathie sind sowohl die Ventrikel als auch die Atrien hochgradig volumenüberlastet, bei der Mitralstenose ist die Stauung hingegen hauptsächlich im linken Atrium lokalisiert. Daraus wird gefolgert, dass die Plasmakonzentration von BNP beim Menschen hauptsächlich den Schweregrad von ventrikulärer Volumenüberlastung reflektiert. Der BNP-Plasmaspiegel lag bei beiden Gruppen signifikant höher als bei einer gesunden Kontrollgruppe (52, 63).

Die BNP-Plasmakonzentration ist bei Patienten mit Myokardhypertrophie im Vergleich zu gesunden Individuen deutlich erhöht, auch wenn noch eine normale systolische Funktion besteht. Unterscheidet man zwischen obstruktiver und nicht-obstruktiver Hypertrophie, so kann man bei den Patienten mit einer obstruktiven Hypertrophie – und somit einem erhöhten linksventrikulären enddiastolischen Druck – eine wesentlich höhere BNP-Plasmakonzentration feststellen als bei Patienten, bei denen der enddiastolische Druck noch im Normalbereich liegt. Bei diesen Patienten sind die Myokardzellen deutlich mehr hypertroph und weisen einen höheren Grad an Fibrose auf als bei Patienten mit normalem enddiastolischen Druck und niedrigeren BNP-Werten. Im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe war die BNP-Plasmakonzentration in beiden Patientengruppen mit kardialer Hypertrophie deutlich erhöht. Dies zeigt, dass eine gesteigerte Produktion von BNP bei einer Hypertrophie des Myokards auch in Krankheitsstadien mit erhaltener systolischer Funktion vorkommt (55), und dass die Myokarddicke und der Ventrikeldiameter mit der BNP-Expression in Zusammenhang stehen

(117). Weiterhin ist die Plasmakonzentration von BNP bei Patienten mit hypertropher Kardiomyopathie deutlich höher als bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie. Die Myokarddicke und somit die linksventrikuläre Masse korrelieren signifikant mit der BNP-Konzentration im Blut (110).

#### **2.4.5 Kongestive Herzinsuffizienz**

Beim kongestiven Herzversagen, das definitionsgemäß mit Stauungserscheinungen einhergeht, kommt es zu einer starken Erhöhung der BNP-Genexpression (59). Es konnte gezeigt werden, dass die BNP- und ANP-Konzentrationen bei Menschen mit kongestivem Herzversagen proportional zum Schweregrad der Erkrankung ansteigen (63, 106). Bei Menschen mit isolierter chronischer Mitralinsuffizienz ist die Konzentration von BNP im Plasma wesentlich höher als in der gesunden Kontrollgruppe. Ebenso steigt BNP mit zunehmendem Schweregrad der Erkrankung an, korreliert jedoch nicht mit den linksventrikulären Dimensionen, der linksventrikulären Verkürzungsfraction oder der Größe des linken Atriums (118). Ein hoher BNP-Plasmaspiegel ist bei Menschen mit kongestiver Herzinsuffizienz ein unabhängiger Risikofaktor für die Mortalität dieser Patienten (119). Auch beim Hund ist ein massiver Anstieg der BNP-Konzentration in den verschiedenen kardialen Geweben sowie im Plasma nachgewiesen – je nach Schweregrad der Kongestion (56).

#### **2.4.6 Myokardinfarkt**

Der Plasmaspiegel von BNP ist beim Menschen mit instabiler Angina pectoris und nach akutem Myokardinfarkt deutlich erhöht (120). Bei Patienten mit Myokardinfarkt hat sich gezeigt, dass die Erhöhung der Konzentration von BNP im Plasma mit der Größe des Infarktareals und dem Schweregrad der linksventrikulären Dysfunktion korreliert (111, 121, 122). Es konnte gezeigt werden, dass die BNP-Plasmakonzentration im Gegensatz zur ANP-Plasmakonzentrationen eine wichtige und unabhängige Information für die Prognose nach einem akuten Herzinfarkt darstellt (123-126). Ein erhöhter BNP-Plasmaspiegel in der frühen oder subakuten Phase des Myokardinfarkts ist ein guter und nicht invasiver Indikator für eine schlechte Prognose und reflektiert den Grad der linksventrikulären Dysfunktion (121, 123) sowie den Grad des myokardialen Remodellings (126) bei diesen Patienten. Auch im Tierversuch mit Ratten hat sich gezeigt, dass die Plasmakonzentration von BNP bei Tieren mit kongestivem Herzversagen in wesentlich höherem Maße ansteigt als ANP – nach akutem Myokardinfarkt auch wesentlich schneller. Die ventrikuläre Genexpression von BNP nach akutem Myokardinfarkt steigt innerhalb von 12 Stunden auf das zweifache an, innerhalb von 24 Stun-

den sogar bis auf das fünffache. Eine Erhöhung der Gewebekonzentration von BNP wurde sowohl in der Infarktregion als auch im umgebenden Gewebe festgestellt. Die massive Genexpression findet in den gesunden Myozyten statt. Diese befinden sich im und um das nekrotische Gewebe der Infarktregion (89).

#### **2.4.7 Verhältnisse beim Hund**

Beim Menschen ist BNP zur Erkennung von symptomlosen linksventrikulären Dysfunktionen besser geeignet als beispielsweise ANP und reflektiert auch den Grad der Herzinsuffizienz besser (52). Dies muss nicht unbedingt den Verhältnissen beim Hund entsprechen.

Bei gesunden Menschen und Hunden ist die Plasmakonzentration von BNP wesentlich niedriger als die von ANP. Beim Menschen mit chronischem Herzversagen steigt die BNP-Plasmakonzentration massiv an, etwa vergleichbar mit der ANP-Plasmakonzentration der Patienten. Wie jedoch Häggström et al. (2000) zeigen konnten, steigt die BNP-Plasmakonzentration beim Hund mit kardialer Dysfunktion nicht so dramatisch an wie in vergleichbaren Krankheitsstadien beim Menschen, aber ebenfalls in Relation zum Schweregrad des Herzversagens (127) und des PCWP (128). Der BNP-Plasmaspiegel ist beim Hund mit degenerativer Klappenendokardiose weniger deutlich erhöht als bei Menschen mit ischämischer Myokardschädigung oder anderen Arten des Herzversagens. Die BNP-Konzentrationen unterschieden sich in allen Klassen der New York Heart Association (NYHA) signifikant voneinander. So sind die BNP-Konzentrationen im Plasma von Hunden mit einer dekompensierten Herzkrankheit signifikant höher als bei Hunden mit einer gut kompensierten Herzkrankheit (128). Es besteht ein enges Verhältnis zwischen BNP und einer Anzahl anderer hämodynamischer Parameter (129).

Ein erhöhter BNP-Plasmaspiegel ist zur Erkennung linksventrikulärer systolischer und diastolischer Dysfunktionen und linksventrikulärer Hypertrophie auch beim Hund ein besserer Parameter als C- und N-terminales ANP (52).

Bei einer akuten Volumenüberlastung des Herz-Kreislaufsystems scheint BNP beim Hund keine bedeutende Rolle zu spielen. Nach akuter intravaskulärer Volumenüberlastung, die durch Infusion einer physiologischen Kochsalzlösung hervorgerufen wurde, konnte beim Hund ein deutlicher Anstieg von ANP beobachtet werden, jedoch keine Veränderung des BNP-Plasmaspiegels (60).

Die therapeutische Rolle des BNP wurde bereits in mehreren Studien am Tier getestet. Bei Hunden mit artifiziell verursachtem akuten Herzversagen führte eine wiederholte subkutane Applikation von BNP zu einem deutlich erhöhten zirkulierenden cGMP-Level, zu einer Reduktion der PCWP und zu einer erhöhten Natriumausscheidung über den Urin (94). Bei einer weiteren Studie waren nach zehn Tagen wiederholter subkutaner Applikation von BNP das kardiale Auswurfvolumen größer und der systemische Gefäßwiderstand – in Verbindung mit erhöhter Natriumausscheidung und renalem Blutfluss – kleiner als zuvor (96).

## **2.5 BNP: Potential und Möglichkeiten für die Zukunft**

### **Therapiemonitoring**

Die Plasmakonzentration von BNP ist eng an den Schweregrad einer Herzkrankheit gekoppelt. So gilt BNP als ein sehr guter Indikator zur Feststellung des Schweregrads sowie der Einschätzung der Prognose bei Patienten mit chronisch kongestivem Herzversagen (130, 131). BNP kann weiterhin Hinweise auf den Therapieerfolg liefern. Ändert sich die BNP-Plasmakonzentration während der Therapie bei Menschen mit dekompenziertem Herzversagen, so hat diese Veränderung eine große Aussagekraft bezüglich der Prognose des Patienten (132). Hohe BNP-Plasmakonzentrationen gelten als unabhängiger Risikofaktor für die Mortalität von Patienten mit kongestivem Herzversagen (106, 119) und identifizieren Gruppen von Patienten mit einem sehr hohen Risiko der Mortalität (131). Sie weisen mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine Verschlechterung des Zustandes der Patienten unter Therapie hin. Sie stehen in höherer Korrelation mit Morbidität und Mortalität als gering- bis mittelgradig erhöhte BNP-Plasmakonzentrationen (133). Auch bei Patienten mit nur gering- bis mittelgradigem Herzversagen gilt BNP als aussagekräftiger Indikator für die Prognose (8, 134). Wird die Therapie einer Herzkrankheit unter Zuhilfenahme des BNP-Wertes modifiziert, so ist die Anzahl der kardiovaskulären Zwischenfälle wesentlich geringer als bei Patienten, deren Therapie anhand klinischer Untersuchungen modifiziert wird (135). BNP kann Patienten mit hohem Risiko für kardiovaskuläre Zwischenfälle gut selektieren und hilft somit, die Patienten herauszufiltern, bei denen eine aggressivere Therapie erforderlich ist (113).

Auch bei Patienten mit akutem Herzversagen ist die Plasmakonzentration von BNP der wichtigste prognostische Faktor für die erhöhte Mortalität dieser Patientengruppe (136). Selbst bei primärer pulmonaler Hypertonie erhöht sich die BNP-Plasmakonzentration proportional zum Grad der rechtsventrikulären Dysfunktion (137). Bei diesen Patienten mit chronischer Lungenerkrankung – und daraus resultierender rechtsventrikulärer Hypertrophie – war BNP der



einzigste Parameter, der als unabhängiger Indikator auf eine erhöhte Mortalität dieser Patienten hinwies. Vergleichbare Aussagekraft hatten weder das Alter, das Geschlecht, ANP, hämodynamische Variablen noch das Verhältnis des Sauerstoffpartialdrucks zur aufgenommenen Sauerstoffmenge (138).

### **Screening Test**

Die Konzentration von BNP in einer Blutprobe erniedrigt sich auch nach zwei Tagen bei Raumtemperatur nicht signifikant. BNP bietet daher sehr gute Voraussetzungen für einen Routine-Test, sowohl im Krankenhaus als auch in der privaten Praxis (139). Die Messung der BNP-Plasmakonzentration könnte eine kosteneffektive Methode für das Aufspüren von linksventrikulären systolischen Dysfunktionen in der Bevölkerung werden, insbesondere bei Menschen mit erhöhtem Risiko für eine Herz-Kreislaufkrankung (108).

Allerdings gibt es hierzu auch kontroverse Meinungen. Im Vergleich zu anderen Markern gilt die BNP-Messung zwar als sensitivster Marker für das Erkennen einer asymptomatischen linksventrikulären Dysfunktion; die absolute Sensitivität der Messung ist allerdings noch umstritten. Bei einer Studie von Friedl et al. (1996) betrug die Sensitivität des Tests nur 58 Prozent bei Patienten in Ruhe und 65 Prozent nach Anstrengung (140). Ursache für unterschiedliche Angaben in der Literatur könnte die unterschiedliche Festsetzung von BNP-Grenzwerten sein, da Sensitivität und Spezifität des Tests je nach verwendetem Grenzwert variieren.

Bei einer Studie von Niinuma et al. (1998) beim Menschen hatte BNP – bei einem Grenzwert von über 40 pg/ml – eine Sensitivität von 85 Prozent und eine Spezifität von 92 Prozent für das Erkennen einer Herzkrankheit. Ein Level kleiner oder gleich 13 pg/ml ergab für eine Herzkrankheit einen negativen Prädiktionwert von 100 Prozent. Daher gilt BNP unter diesen Umständen als sehr guter biochemischer Marker für das Aufspüren von Herzkrankheiten bei asymptomatischen Patienten (141).

Bei einer anderen weit angelegten Studie von McDonagh et al. (1998) – mit über 1.600 Teilnehmern im Alter von 25 bis 74 Jahren – war die mittlere BNP-Konzentration bei Patienten mit eingeschränkter systolischer Funktion ebenfalls signifikant höher als bei gesunden Patienten. Bei diesen Patienten mit erhöhter BNP-Konzentration waren sowohl symptomatische als auch asymptomatische Patienten vertreten. Eine BNP-Konzentration von mindestens 17,9 pg/ml ergab eine Sensitivität von 77 Prozent und eine Spezifität von 87 Prozent für das Vorhandensein einer Herzkrankheit (108). Weiterhin ist BNP hervorragend geeignet, um kar-

diale von nicht-kardialen Ursachen für Dyspnoe zu unterscheiden. In der Notfallmedizin ergibt sich für BNP daher ein großes Einsatzspektrum (142).

Die Nutzung von BNP in der veterinärmedizinischen Praxis als Screening-Test für kardiovaskuläre Dysfunktionen lässt sich zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch kaum realisieren. Im Gegensatz zur Humanmedizin steht noch kein BNP-Schnelltest zur Verfügung. Kanines BNP muss bislang mittels Radioimmunoassay bestimmt werden, der sowohl kosten- als auch zeitintensiv ist.

### **Therapiemöglichkeiten**

Seit der Entdeckung der natriuretischen Peptide und deren Funktion haben sich für die Therapie von kardiovaskulären Krankheiten neue Aspekte ergeben. Therapiemöglichkeiten setzen an drei Punkten an: der Applikation von exogenem BNP sowie der Hemmung seiner beiden Abbauege – also der Inhibition der neutralen Endopeptidase als auch einer Blockade des NPR-C.

Verschiedene Studien haben sich mit der therapeutischen Verwendung von BNP beschäftigt. Yasue et al. (1996) konnten zeigen, dass intravenöse Infusionen von BNP sowohl die PCWP als auch den systemischen Gefäßwiderstand erniedrigen und das Herzminutenvolumen im Vergleich mit der gesunden Kontrollgruppe erhöhen. Ebenso erhöhen sich das Urinvolumen, die Natrium- und die Chlorausscheidung. Daher verbessert sich unter BNP-Einwirkung die linksventrikuläre Funktion durch Vasodilatation und prominente Natriurese (4).

Auch beim Hund mit artifiziell verursachtem Herzversagen führt eine wiederholte subkutane Applikation von BNP zu ähnlichen Ergebnissen. Frühzeitig erhöhen sich messbar ANP-, BNP- und cGMP-Konzentrationen. Sie wirken sich sowohl in erhöhter Natriurese und Diurese aus als auch in einer erhöhten glomerulären Filtrationsrate. Daraufhin sinkt der kardiale Füllungsdruck ab (94, 96). Die Erhöhung des BNP-Plasmaspiegels und des cGMP in Plasma und Urin hält nach subkutaner Applikation länger an als nach einer intravenösen Bolusinjektion (96).

Auch bei Hunden mit eingeschränkter systolischer Funktion erniedrigt eine BNP-Infusion den mittleren systemischen arteriellen und pulmonalen Druck und den systemischen Gefäßwider-

stand (100). Ebenso wirkt sich die Applikation von exogenen natriuretischen Peptiden - insbesondere von BNP – bei Patienten mit ischämischem Herzversagen günstig aus (143).

Das therapeutische Potenzial einer Blockierung des Abbaus von endogenem Plasma-BNP wurde ebenfalls untersucht. Im Tierversuch wurde bei Schafen mit Herzversagen die Auswirkung einer separaten und einer kombinierten Inhibition beider Abbauwege auf die Bioaktivität von ANP und BNP erforscht. Eine Hemmung der neutralen Endopeptidase (NEP 24.11) wurde durch SCH-32615 durchgeführt. Eine Rezeptorblockade des NPR-C wurde durch C-ANP-(4-23) vermittelt.

Beide Substanzen – separat appliziert – bewirkten eine proportionale, dosisabhängige Steigerung der ANP-, BNP- und cGMP-Konzentrationen. Assoziiert mit diesen Veränderungen waren Reduktionen im systemischen arteriellen Druck, im linksatrialen Druck und im peripheren Widerstand. Die kardiale Auswurfleistung, das Urinvolumen sowie die Natrium- und Kreatininausscheidung stiegen an. SCH-32615 – und somit eine Hemmung der neutralen Endopeptidase – induzierte eine größere Diurese und Natriurese als C-ANP-(4-23).

Weiterhin kommt es bei einer kombinierten Applikation der beiden Substanzen zu einer wesentlich größeren Erhöhung der ANP-, BNP- und cGMP-Konzentrationen im Plasma – mit erweiterten hämodynamischen Effekten, verstärkter Diurese und Natriurese und erniedrigten Plasmaaldosteronkonzentrationen. Werden die ANP-, BNP- und cGMP-Konzentrationen nach separater Inhibition beider Abbauwege mathematisch addiert und mit dem Wert der kombinierten Hemmung verglichen, so sind die Plasmakonzentrationen unter kombinierter Hemmung höher als die rechnerische Summe der Konzentrationen bei separater Hemmung. Daher ist es wahrscheinlich, dass die kombinierte Inhibition beider Abbauwege einen größeren therapeutischen Wert hat als die getrennte Verwendung der beiden Substanzen (83).

## **2.6 Pathophysiologie des Herzversagens**

Der Begriff „Herzversagen“ beschreibt einen klinischen Zustand, bei dem die Funktion des Herzens so stark eingeschränkt ist, dass die kardiovaskulären Kompensationsmechanismen des Körpers eine normale Hämodynamik nicht mehr gewährleisten. Die Ursachen für Herzversagen sind mannigfaltig und können zu einem systolischen und/oder diastolischen Herzversagen führen. Unabhängig von der Ursache ist das Herzversagen letztlich immer von der beeinträchtigten intrinsischen Kontraktilität der Myozyten gekennzeichnet. Sowohl das systolische als auch das diastolische Herzversagen resultiert in einer Verminderung des Herzminutenvolumens. Die Folge sind sowohl zentrale als auch periphere Kompensationsmechanismen, die effektiv der herabgesetzten Intrinsic entgegen arbeiten. Das Herz hat nur eingeschränkte Möglichkeiten, um auf die verschiedenen Veränderungen zu reagieren. Dazu gehört vor allem eine Rekrutierung von Vorlastreserven. Durch Erhöhung der Vorlast steigen über den Frank-Starling-Mechanismus die Kontraktionskraft und das Auswurfvolumen an. Weiterhin tragen eine Hypertrophie der kardialen Myozyten und eine erhöhte neurohormonale Stimulation zur Aufrechterhaltung der Herzleistung bei. Mit dem Fortschreiten der Herzkrankheit gehen alle Kompensationsmechanismen mit negativen Nebenwirkungen und einer weiteren Verschlechterung der kardialen Funktion einher (144).

### **2.6.1 Systolische Funktion und Dysfunktion**

Die systolische Leistung des Herzens bestimmt – gemeinsam mit dem arteriellen System – den systemischen arteriellen Blutdruck. Sie ist dafür verantwortlich, dass das Herz dem Körper eine adäquate Menge Blut für seine metabolischen Bedürfnisse zur Verfügung stellt. Das Herzminutenvolumen – also die Menge an Blut, die in einer Minute vom Herzen in die Zirkulation ausgeworfen wird – ist abhängig von Schlagvolumen und Herzfrequenz. Die Herzfrequenz lässt das Herzminutenvolumen linear ansteigen, bis ein bestimmtes Plateau erreicht ist. Danach kann auch eine weitere Steigerung der Herzfrequenz keine Erhöhung des Herzminutenvolumens mehr bewirken. Das Schlagvolumen wiederum – also die Menge an Blut, die bei einem Herzschlag ausgeworfen wird – ist hauptsächlich abhängig von der Kontraktilität, der Vor- und der Nachlast. Eine Erhöhung von Vorlast und Kontraktilität und eine Erniedrigung der Nachlast lassen das Schlagvolumen ansteigen. Auch eine verschlechterte diastolische Funktion – und somit eine verminderte Ventrikelfüllung –, abnormale Ventrikelwandbewegungen oder auch Arrhythmien beeinflussen das Schlagvolumen des Herzens (144).

Das systolische Herzversagen ist gekennzeichnet durch eine normale diastolische Füllung des linken Ventrikels und eine Verminderung des vorwärts gerichteten Schlagvolumens. Die drei häufigsten Ursachen für eine Verminderung des Schlagvolumens sind: eine verminderte Kontraktilität (myokardiales Versagen), ein primärer Anstieg des Ventrikeldrucks (primäre Drucküberlastung) und ein primärer Anstieg des Ventrikelvolumens (Volumenüberlastung) (144).

#### Verminderte Kontraktilität

Eine verminderte Kontraktilität, also ein intrinsisches Versagen der Myozyten – führt zu einer verminderten Auswurfleistung des Ventrikels. Dieser Zustand wird als primäres Myokardversagen bezeichnet und entsteht – im Gegensatz zu sekundärem Myokardversagen – durch eine primäre Myokarddysfunktion. Die häufigsten Ursachen sind beim Hund die dilatative Kardiomyopathie sowie Myokarditiden. Myokardinfarkte – wie sie aus der Humanmedizin bekannt sind – spielen beim Hund kaum eine Rolle. Durch die verminderte Fähigkeit der Ventrikel, das Blut vorwärts gerichtet zu transportieren, entsteht ein Rückstau über die Atrien in den großen und kleinen Kreislauf. Beim häufiger vorkommenden Linksherz-Versagen kommt es zu einer Erhöhung des kapillaren hydrostatischen Drucks in den Lungenvenen. Es führt so zur Entstehung eines Lungenödems (144).

#### Primäre Drucküberlastung

Bei einer pathologischen Drucküberlastung – wie sie beispielsweise bei Ausflusstraktstenosen, systemischer oder pulmonaler Hypertonie vorkommt – muss der Ventrikel gegen einen erhöhten Widerstand anpumpen. Die erste Reaktion der Myozyten ist ein Auseinandergleiten der Myofilamente bis zu derjenigen Sarkomerlänge, an der noch eine optimale Kraftübertragung stattfinden kann – und somit eine Steigerung der Kontraktilität. Durch die initiale Dilatation des Ventrikels kommt es zu einer Vergrößerung des linksventrikulären Radius und zu einer Verminderung der Wanddicke. Gemeinsam mit dem erhöhten intraventrikulären Druck entsteht eine erhöhte Wandspannung. An den Myozyten erhöht sich unter diesen Bedingungen der Sauerstoffverbrauch. Nach anhaltender Drucküberlastung reicht die initiale Dilatation nicht aus, um die Auswurfleistung aufrecht zu erhalten. Es kommt zu einer konzentrischen Hypertrophie, also einer Verdickung der Ventrikelwand, und somit zu einer Normalisierung der Wandspannung. Allerdings ist der hypertrophe Ventrikel sehr anfällig für Ischämien, die zu perimuskulärer Fibrose führen. Dadurch verschlechtern sich wiederum die systolische und die diastolische Funktion. Die Erhöhung des Kollagengehalts im Ventrikel, die mit der Myo-

kardhypertrophie einhergeht, führt zwar zu einer Verbesserung der systolischen Funktion und somit zu einer Erhöhung des Schlagvolumens, hat aber eine Verschlechterung der Relaxationsfähigkeit – also der diastolischen Funktion – zur Folge. Schreitet die Hypertrophie des Ventrikels fort, kommt es zu einem sekundären myokardialen Versagen. Obwohl die Auswurfleistung des Ventrikels noch lange aufrechterhalten werden kann, führen der erhöhte Druck und die verminderte Relaxationsfähigkeit zu Kongestionen (144).

#### Primäre Volumenüberlastung

Primäre Klappenfehler und daraus resultierende Klappeninsuffizienzen gelten als häufigste Ursache für kardiale Volumenüberlastungen beim Hund. Kongenitale Abnormalitäten – wie Septumdefekte oder ein persistierender Ductus Botalli – führen ebenfalls zu massiver Volumenüberlastung, haben jedoch eine wesentlich geringere Inzidenz. Der Ventrikel muss sich an ein erhöhtes enddiastolisches Volumen anpassen. Auch auf diesen Reiz hin findet zunächst eine Dilatation statt. Die ersten Schritte entsprechen dem Kompensationsmechanismus unter Drucküberlastung. Allerdings kommt es unter anhaltender Volumenüberlastung zu einer exzentrischen Hypertrophie. Anfangs kommt es kaum zu Kollagenzubildung, sondern eher zum Kollagenabbau, um eine Dilatation zu ermöglichen. Bleibt der pathologische Zustand bestehen, kommt es zu einem unkontrollierten Auseinandergleiten der Herzmuskelfasern und zu einer extensiven Kammervergrößerung. Der zunächst kompensierte enddiastolische Druck steigt wieder über den Normalwert an. Die Wandspannung und der Sauerstoffverbrauch erhöhen sich. Schließlich kommt es zu einer Druckhypertrophie und einer fortschreitenden Fibrose, letztendlich ebenfalls zu sekundärem myokardialen Versagen. Kongestionen entstehen in diesem Fall nicht erst spät im Krankheitsverlauf, wenn das sekundäre Myokardversagen die Vorwärtsleistung herabsetzt, sondern sind bereits sehr frühzeitig zu erkennen. Bei einer primären Klappeninsuffizienz beispielsweise kommt es von Beginn an zu geringen Stauungsercheinungen, die durch die Kompensationsmechanismen nicht in Erscheinung treten, sich aber im Verlauf der Krankheit massiv verschlimmern können (144).

#### **2.6.2 Diastolische Funktion und Dysfunktion**

Beim diastolischen Herzversagen kommt es durch eine beeinträchtigte Relaxationsfähigkeit des Ventrikels und/oder eine erhöhte Kammersteifheit zunächst zu einer inadäquaten diastolischen Füllung, ohne dass die systolische Auswurfleistung eingeschränkt ist. Die Relaxation ist ein dynamischer, Energie verbrauchender Prozess. Die häufigsten Ursachen für eine diastolische Dysfunktion beim Hund sind Ventrikelhypertrophien und perikardiale Abnormalitä-

ten, die zu einer Herztamponade führen. Auch die dilatative Kardiomyopathie führt zu anormaler Relaxation. Durch die verminderte Fähigkeit des Ventrikels, sich zu dehnen, kommt es zu einem Ansteigen des diastolischen Füllungsdrucks, zu einer verminderten Füllung des Ventrikels und zu einem Rückstau in den großen und kleinen Kreislauf. Durch diese Verminderung der Vorlast kommt es zu einer Erniedrigung des Herzminutenvolumens und zu einem Absinken des arteriellen Blutdrucks. Durch  $\beta$ -adrenerge Stimulation kann die Relaxationsfähigkeit zunächst noch gesteigert werden, allerdings kommt es durch die damit verbundene positive Chronotropie wiederum zu einer Verkürzung der Diastase und somit zu einer Verkürzung der gesamten Diastole. Die klinisch sichtbaren Kongestionen entstehen hauptsächlich durch das Unvermögen des Herzens, den venösen Rückfluss aus Lunge und Körper aufzunehmen (144).

## **2.7 Neurohumorale Kompensationsmechanismen**

Durch ein erniedrigtes Herzminutenvolumen und durch arterielle Hypotonie werden neurohumorale Kompensationsmechanismen stimuliert. Der resultierende Nettoeffekt dieser Mechanismen sind Vasokonstriktion, Natrium- und Wasserretention sowie eine Erhöhung des Sympathikustonus über Barorezeptoraktivierung.

### **2.7.1 Das Renin-Angiotensin-Aldosteronsystem**

Das erniedrigte Herzminutenvolumen führt zu einer renalen Hypoperfusion. Dieser geringe arterielle Druck führt – zusammen mit dem dadurch bedingten verminderten Natriumtransport in die Macula densa und der renalen  $\beta$ -adrenergen Rezeptorstimulation – zu einer erhöhten Ausschüttung von Renin. Durch Abspaltung eines Dekapeptids durch Renin entsteht aus dem Angiotensinogen das Angiotensin I.

Das Angiotensin Converting Enzyme wandelt über die Abspaltung von zwei Aminosäuren Angiotensin I in Angiotensin II um. Angiotensin II vermittelt eine potente Vasokonstriktion und somit eine Steigerung des systemischen Blutdrucks. Zentral vermittelt es eine Steigerung des Durstgefühls und des Salzappetits. An der Niere führt die lokale Vasokonstriktion am Vas afferens zu einer Erniedrigung der glomerulären Filtrationsrate und somit zu einer verminderten Natrium- und Wasserausscheidung. Zusammen bewirken diese unterschiedlichen Mechanismen eine vaskuläre Volumenretention und halten die Gefäßspannung aufrecht.

Auch Aldosteron, dessen Ausschüttung aus der Nebennierenrinde direkt durch Angiotensin II stimuliert wird, trägt über Natrium- und Chlorreabsorption, Kalium- und Hydrogensekretion sowie durch Wasserresorption zur Flüssigkeitsretention bei. Nach einer Erhöhung der Synthese des Anti-Diuretischen Hormons (ADH) durch Angiotensin II kommt es zu einer direkten Vasokonstriktion und zu einer erhöhten Wasserresorption aus dem distalen Nephron.

Mit dem Fortschreiten der Herzinsuffizienz kommt es durch diese Kompensationsmechanismen zu einer exzessiven Volumenretention. Dies entspricht einer Nachlastserhöhung, welche zu einer weiteren Verschlechterung der Auswurfleistung führt – also auch des Herzminutenvolumens. Die Kongestion wird massiver und es kommt zu Ödemen und zu Ergüssen in den Körperhöhlen.



## 2.8 Die ISACHC-Klassifizierung

Die Einteilung von verschiedenen Herzkrankheiten erfolgt anhand klinischer Symptome in einer funktionellen Klassifizierung. Die ISACHC-Klassifizierung (International Small Animal Cardiac Health Council) teilt Herzpatienten in fünf verschiedene Stadien ein.

### **Klasse I: Asymptomatische Patienten**

Der Status als Herzpatient kann nur durch eine Untersuchung des kardiovaskulären Systems festgestellt werden.

Klasse Ia: Es bestehen Anzeichen einer Herzkrankheit, jedoch besteht keine oder nur geringgradige Kardiomegalie.

Klasse Ib: Es bestehen Anzeichen einer Herzkrankheit und geringgradige Stauungsanzeichen mit mindestens geringgradiger Kardiomegalie.

### **Klasse II: Geringes bis mittelschweres Herzversagen**

Klinische Anzeichen von Herzversagen treten bereits in Ruhe oder nach geringer Belastung auf. Es besteht bereits eine Einschränkung der Lebensqualität. Klinische Symptome sind: Leistungsschwäche, Husten, Dyspnoe und Ergüsse in die Körperhöhlen.

### **Klasse III: Fortgeschrittenes Herzversagen**

Ein Überleben des Patienten ohne aggressive Therapie ist nicht mehr gewährleistet.

Klasse IIIa: Eine Betreuung des Patienten ist ohne stationären Aufenthalt möglich. Die Therapie kann Zuhause durchgeführt werden.

Klasse IIIb: Eine Hospitalisation ist erforderlich, um das Leben des Patienten nicht zu gefährden. Der Patient ist im kardiogenen Schock, leidet an einem lebensbedrohlichen Lungenödem, an Thorax- oder Abdominalerguss.

### 3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.1 Zielsetzung

In der vorliegenden Studie soll analysiert werden, ob BNP beim Hund als geeigneter Indikator für den Schweregrad einer Herzkrankheit verwendet werden kann. Die Patienten wurden den Gruppen der ISACHC-Klassifizierung zugeteilt. Von besonderem Interesse war in der vorliegenden Studie eine mögliche Korrelation zwischen diesen ISACHC-Gruppen und den BNP-Plasmakonzentrationen, die bei den entsprechenden Patienten gemessen wurden.

#### 3.2 Material und Methoden

##### 3.2.1 Patientengut

Studienteilnehmer waren Patienten der I. Medizinischen Tierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München. Es wurden 72 Hunde in die Studie aufgenommen. In die Studie wurden nur solche Patienten aufgenommen, deren Krankheiten kardiovaskulären Ursprungs waren. Zusätzliche Krankheiten durften das kardiovaskuläre System nicht beeinflussen. Daher wurden beispielsweise Tiere mit renaler Hypertonie oder Hyperthyreose sowie dehydrierte Hunde von der Studie ausgeschlossen. Alle Patienten konnten in die Gruppen der ISACHC-Klassifizierung für Herzkrankheiten eingeordnet werden.

Bei den Patienten handelte es sich um 26 Mischlings- und 46 Rassehunde. Aufgrund der sehr großen Rassenvielfalt (34 vertretene Rassen) wäre eine Gruppenbildung nach Rassen wenig sinnvoll gewesen. Die entsprechenden Fallzahlen wären zu gering, um eine sinnvolle statistische Auswertung vornehmen zu können. Sinnvoller erschien daher eine Gruppenbildung nach Körpergewicht. Tiere mit mehr als 20 kg Körpergewicht wurden in die Klasse R1, Tiere mit einem Körpergewicht von weniger als 20 kg wurden in die Klasse R2 eingeteilt. Die Mischlingshunde wurden ebenfalls entsprechend ihrem Gewicht eingeteilt.

	Anzahl der Hunde	Prozent	Prozent valide	Prozent kumulativ
Mix 1	11	15,3	15,3	15,3
Mix 2	16	22,2	22,2	37,5
Rasse 1	26	36,1	36,1	73,6
Rasse 2	19	26,4	26,4	100,0
Total	72	100,0	100,0	

**Tabelle 1: Verteilung Rassen**

Mix 1 und 2 = Mischlingshunde >20 kg bzw. <20 kg, Rasse 1 und 2 = Rassehunde > 20 kg bzw. < 20 kg

Bei den 45 Rassehunden waren 34 verschiedene Rassen vertreten. Dobermann und Rauhaardackel waren die am häufigsten vertretenen Rassen. Im Einzelnen waren folgende Rassen vertreten (n=Anzahl):

Beagle	n = 1	Havanese	n = 1
Berger de Pyrénées	n = 1	Irischer Wolfshund	n = 1
Bernhardiner	n = 1	Kleiner Münsterländer	n = 1
Bobtail	n = 1	Königspudel	n = 1
Border Terrier	n = 1	Labrador Retriever	n = 1
Bouvier de Flandres	n = 1	Leonberger	n = 1
Boxer	n = 1	Neufundländer	n = 1
Bullterrier	n = 1	Podenco (Ibiza)	n = 1
Canarische Dogge	n = 1	Pon	n = 1
Cavalier King Charles Spaniel	n = 1	Pudel	n = 1
Cocker Spaniel	n = 1	Rauhaardackel	n = 4
Dalmatiner	n = 1	Samojede	n = 1
Deutsche Dogge	n = 1	Sheltie	n = 2
Deutscher Schäferhund	n = 2	Welsh Terrier	n = 1
Dobermann	n = 5	West Highland Terrier	n = 1
Golden Retriever	n = 1	Yorkshire Terrier	n = 3
Gordon Setter	n = 1	Zwergschnauzer	n = 1

Es kamen 45 Rüden und 27 weibliche Tiere zur Auswertung. Von den 45 Rüden waren 19 Tiere kastriert, von den 27 weiblichen Tieren waren es 16.

	Anzahl der Hunde	Prozent	Prozent valide	Prozent kumulativ
m	26	36,1	36,1	36,1
mk	19	26,4	26,4	62,5
w	11	15,3	15,3	77,8
wk	16	22,2	22,2	100,0
Total	72	100,0	100,0	

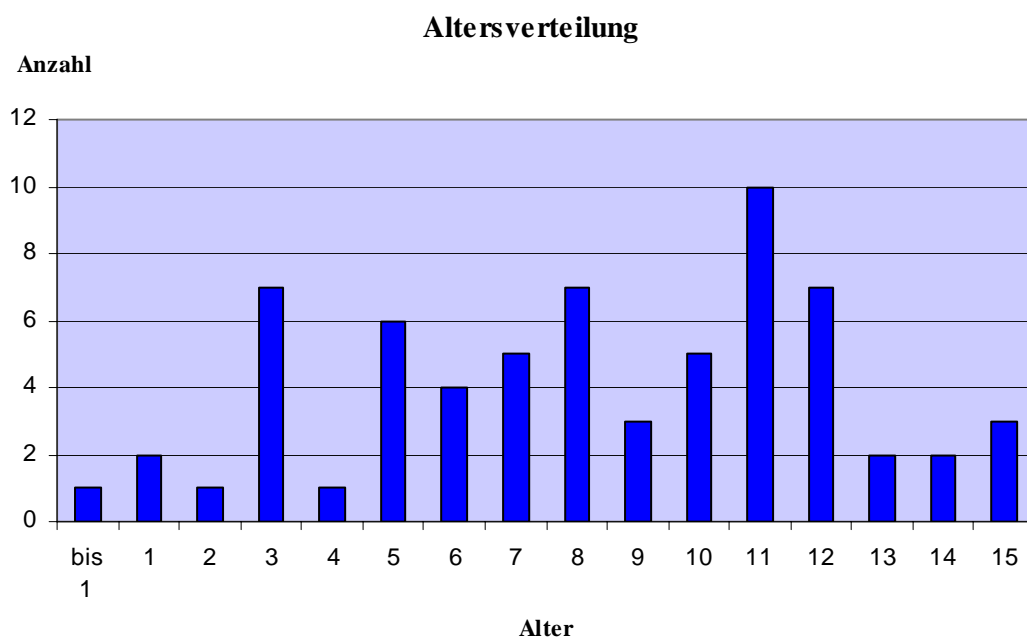
**Tabelle 2: Häufigkeit Geschlecht**

m = männlich, mk = männlich kastriert, w = weiblich, wk = weiblich ovariohysterektomiert

Der jüngste Studienteilnehmer war ein halbes Jahr alt, der älteste 15 Jahre. Bei sechs Patienten konnte das Alter nur geschätzt werden. Diese Tiere waren alle ausgewachsen, aber noch in sehr jungem Erwachsenenalter. Sie wurden in der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt.

Alter in Jahren	Anzahl der Hunde	Prozent	Prozent valide	Prozent kumulativ
0,5	1	1,5	1,5	1,5
1	2	3,0	3,0	4,5
2	1	1,5	1,5	6,0
3	7	10,6	10,6	16,6
4	1	1,5	1,5	18,1
5	6	9,1	9,1	27,2
6	4	6,1	6,1	33,3
7	5	7,6	7,6	40,9
8	7	10,6	10,6	51,5
9	3	4,5	4,5	56
10	5	7,6	7,6	63,6
11	10	15,2	15,2	78,8
12	7	10,6	10,6	89,4
13	2	3,0	3,0	92,4
14	2	3,0	3,0	95,4
15	3	4,5	4,5	100
Total	66	100,0	100,0	

**Tabelle 3: Häufigkeiten Alter**



**Abbildung 3: Altersverteilung der Patienten**

### **3.2.1.1 Klinische Untersuchung**

Bei allen Patienten wurden Alter, Geschlecht, Gewicht und Rasse bestimmt. In einer ausführlichen Anamnese wurde vor allem auf Leistungsinsuffizienz, veränderte Leistungsbereitschaft und Veränderungen im Allgemeinbefinden eingegangen. Im Vorbericht wurde ebenso nach Husten und synkopalen Ereignissen explizit gefragt. Es folgte eine ausführliche klinische Untersuchung mit besonderem Augenmerk auf die Beurteilung des kardiovaskulären Systems. In die Untersuchung einbezogen wurden die Beurteilung der Maulschleimhäute, der Konjunktiven, des Femoralispuls sowie eine sorgfältige Auskultation von Herz und Lunge. Bei der Auskultation des Herzens wurde besonders auf Herzfrequenz, Herzrhythmus und Herzgeräusche Wert gelegt. Bei allen Hunden wurde ein großes Blutbild angefertigt. Zusätzlich wurden folgende Serumparameter untersucht: Harnstoff, Kreatinin, Glukose, alkalische Phosphatase, Alanin-Amino-Transferase, Bilirubin, Gesamteiweiß, Albumin und Elektrolyte. Bei Tieren, deren Krankengeschichte oder deren klinische Untersuchung Hinweise auf weitere, nicht-kardial bedingte Krankheiten lieferte, wurden je nach Indikation weitere Untersuchungen durchgeführt.

### **3.2.1.2 Sonographische Untersuchung**

Alle Studienteilnehmer wurden unsediert in rechter und linker Seitenlage untersucht. Die Untersuchung wurde mit dem Ultraschallgerät (General Electrics Logiq® 400, GE Medical Systems, Cedex, Frankreich) der I. Medizinischen Tierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt. Bei keinem der Patienten war es nötig, die Haare zu scheeren. Zur besseren Ankopplung des Schallkopfes wurden 70%iger (m/m) Alkohol sowie Ultraschallkontaktgel auf das Fell und die Haut aufgetragen. Alle Tiere wurden mit einem 4-MHz-Sektorscanner untersucht. Während der Untersuchung wurde ein einkanaliges EKG aufgezeichnet – entsprechend der Ableitung II nach Goldberger.

### **Untersuchung von rechtsparasternal**

#### **Subjektive Beurteilung**

Alle Patienten wurden zunächst von rechtsparasternal untersucht. Dabei wurden die Globalfunktion, die Verkürzungsfraktion und die Dimensionen der Kammern beurteilt. Besonderer Wert wurde auf die Morphologie der Herzklappen, das Verhältnis der vier Herzkammern zueinander und die Form und Bewegung des interventrikulären Septums gelegt. Auch im Querschnitt erfolgte eine subjektive Beurteilung der genannten Strukturen und Funktionen.

## Objektive Beurteilung

Als objektive Parameter wurden in dieser Lagerung des Patienten die Dimensionen von linkem Atrium und Aorta, die linksventrikulären Parameter und der Pulmonalfluss gemessen. Die Messung der Dimensionen von linkem Atrium und Aorta fanden bei allen Patienten mindestens in der Längsachse statt. Das linke Atrium wurde im Vierkammer-Längsachsenschnitt an seiner breitesten Stelle gemessen – parallel zu Mitralklappenebene bei geschlossener Mitralklappe. Der Aortenbulbus wurde ebenfalls im Vierkammer-Längsachsenschnitt in seiner breitesten enddiastolischen Ausdehnung gemessen. Zur Bestimmung der linksventrikulären Parameter nach Teichholz wurden mindestens eine motion-mode-Messung (M-Mode) in der Längs- und mindestens eine M-Mode-Messung in der Querachse vorgenommen. Die Beurteilung in der Längsachse erfolgte bei maximal geöffnetem Ventrikel, in dem die Papillarmuskeln gerade nicht mehr in die Ebene hineinragen. Das Lot wurde zwischen der Spitze der Papillarmuskeln und den Spitzen der sich öffnenden Mitralklappensegel gefällt.

Im Querschnitt erfolgte die Messung der linksventrikulären Dimensionen auf derjenigen Ebene der Papillarmuskeln, in die die Chordae tendinae gerade noch hineinragen. Bei dieser Messung werden die Dicke des interventrikulären Septums (IVS), die Dimension des linken Ventrikels (LVD) und die Dicke der freien Wand (LVPW) in Systole und Diastole gemessen. Aus diesen Messwerten berechnete das Gerät automatisch die linksventrikuläre segmentale Verkürzungsfraction (fractional shortening). Bei Patienten, bei denen eine M-Mode-Messung nicht möglich war, wurden die linksventrikulären Dimensionen im 2D-Bild bestimmt und die Verkürzungsfraction (FS) manuell nach der Formel  $FS(\%) = (LVDd - LVDs) / LVDd \times 100$  berechnet.

## Untersuchung von linksthorakal

Mittels Dopplermessungen wurden die Flussprofile beider Atrioventrikular- und beider Semilunarklappen bestimmt. Verwendet wurden Farbdoppler, Continuous-Wave-Doppler und Pulsed-Wave-Doppler. Die Geschwindigkeitsmessung erfolgte mittels Continuous-Wave-Doppler.

### **3.2.1.3 Blutentnahme**

Venöses Blut wurde aus der Vena cephalica antebrachii nach Desinfektion der Entnahmestelle und nach kurzem Stauen mit einer sterilen Einmalkanüle entnommen (Sterikan® 0,9x40mm, Firma B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Das Blut tropfte frei in das Probengefäß. Bei den Probengefäßen handelte es sich um mit Kalium-EDTA beschichtete Proberröhrchen mit 5 ml Volumen (K-EDTA 5 ml, Sarstedt Aktiengesellschaft & Co, Nümbrecht, Deutschland). Die mit Kalium-EDTA beschichteten Röhrchen wurden vorgekühlt und bis zur Blutentnahme bei einer Temperatur von -20°C gelagert.

## **3.2.2 Radioimmunoassay**

### **3.2.2.1 Testprinzip**

BNP wird mittels Radioimmunoassay (RIA) nachgewiesen. Auf dem Markt gibt es bereits ein für den Hund spezifisches Testkit für den BNP-Nachweis aus dem Plasma des Hundes (Brain Natriuretic Peptide-32 Canine RIA-Kit, Catalog No.: RK-011-22, Phoenix Europe GmbH, Karlsruhe, Deutschland). Die Sensitivität des Tests gibt die kleinste quantifizierbare Konzentration im RIA an und wird vom Hersteller angegeben mit der Inhibitorischen Konzentration ( $IC_{20}$ ;  $IC_{50}$ ;  $IC_{80}$ ) = 55,75; 10,43 bzw. 1,88 pg/tube. Der kleinste bestimmbar Standard beträgt 1 pg/Röhrchen. Die Spezifität des Testsystems hat laut Hersteller für kanines BNP-32, porcines BNP-32 und BNP-26 eine Kreuzreaktivität von 100 Prozent. Dagegen ist keine Kreuzreaktivität für strukturell ähnliche Peptide vorhanden, wie beispielsweise humanes BNP-32, Ratten-BNP-32 und BNP-45; ebenso nicht für kanines und humanes ANP 1-28 sowie humanes, porcines und Ratten-CNP-22. Auch für Endothelin-1 von Mensch, Rind, Hund, Maus, Schwein und Ratte besteht keine Kreuzreaktivität. Eine Validierung des Testsystems wurde von Tietgen (2003) durchgeführt (145).

Inhalt des Testkits:

1. RIA-Puffer, 50 ml Konzentrat
2. Standardpeptid (Standard peptide), 12,8 µg lyophilisiertes Pulver
3. Kaninchen-Anti-Kanines BNP-Serum (Rabbit antiserum), entspricht dem primären Antikörper, lyophilisiertes Pulver
4. Jod-125-Peptid, 1,5 µCi, lyophilisiertes Pulver
5. Ziege-Anti-Kaninchen-IgG-Serum (Goat Anti-Rabbit IgG, GAR-IgG), lyophilisiertes Pulver
6. Normales Kaninchen-Serum (Normal Rabbit Serum, NRS), lyophilisiertes Pulver

Der vorliegende Test ist ein kompetitiver Radioimmunoassay (RIA). Das Testprinzip basiert darauf, dass eine konstante Menge an Jod-125-Peptid – in Anwesenheit einer konstanten Menge von Antikörpern – durch eine variable Menge von zugesetztem Peptid (Standard, Probe) verdrängt wird. Das radioaktiv markierte Jod-125-Peptid konkurriert also mit BNP-32 um eine bestimmte Anzahl von Antikörpern. Diese primären Antikörper sind im Kaninchen erzeugt und gegen die synthetische Form des kaninen BNP-32 gerichtet. Sie sind sowohl gegen die im Test verwendete synthetische Form spezifisch als auch gegen die in den zu untersuchenden Proben vorkommende Form des natürlichen BNP-32. Steigt die Menge des BNP-32 in der zu untersuchenden Probe oder in den Standards an, so verringert sich die Menge an gebundenem Jod-125-Peptid – und umgekehrt. Durch die Messung der Menge des gebundenen Jod-125-Peptids in den angefertigten Standardproben ist es möglich, eine Standard-Kurve herzustellen. Daraus kann die unbekannte Quantität des BNP-32 in den zu untersuchenden Proben berechnet werden.

### **3.2.2.2 Aufbereitung der Proben**

#### **Plasmagewinnung**

Direkt nach der Blutprobenentnahme wird das Blut bei 4°C zehn Minuten lang bei 1.600 xg zentrifugiert. Dabei wird darauf geachtet, dass es zu keiner Unterbrechung der Kühlkette kommt. Genau 1 ml Plasma wird nun in 13x75 mm Polystyrenröhrchen pipettiert (PS-Röhrchen 13x75 mm, Sarstedt Aktiengesellschaft & Co, Nümbrecht, Deutschland). Diese werden bis zur Durchführung der Plasmaextraktion bei -70°C tiefgefroren.

#### **BNP-Extraktion**

Die BNP-Extraktion wird mit Hilfe von C8-Bond-Elut-Säulen durchgeführt (Bond Elut® C8, Varian Incorporated, Harbor City, USA). Alle Arbeitsschritte sollten auf Eis durchgeführt werden, um eine Umgebungstemperatur der Proben von 4°C zu gewährleisten.

#### Vorbereitung der Proben

Die Proben werden auf Eis aufgetaut. Sobald sie vollständig aufgetaut sind, wird zu jeder Probe 1 ml Trifluoressigsäure (TFA) 0,5 % (m/v) hinzugegeben. Die Proben werden anschließend 20 Minuten lang bei 10.000 xg und 4°C zentrifugiert.



### Vorbereitung der Säulen

Die C8-Säulen werden zunächst mit 4 ml 100%igem Methanol aktiviert. Danach werden sie nochmals mit 4 ml Aqua ad injectabile gewaschen (Firma B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Es muss darauf geachtet werden, dass diese beiden Schritte direkt aneinander anschließen und die Säulen nicht trockenlaufen.

### Extraktion von BNP

Als nächster Schritt wird das Plasma auf die Säulen aufgetragen. Der Bodensatz unterhalb des Überstands wird nicht abpipettiert. Anschließend werden die Säulen nacheinander gewaschen mit 2 ml 0,9%iger (m/v) Kochsalzlösung (isotone Kochsalzlösung, Firma B. Braun Melsungen AG, Melsungen Deutschland), 6 ml Aqua ad injectabile und 1 ml Methanol 100 %. Bis zu diesem Zeitpunkt werden alle Durchläufe verworfen.

Um das BNP aus dem C8-Gerüst zu lösen, wird dieses zunächst mit 2 ml Methanol 90 %, danach mit 1 ml Trifluoressigsäure beschickt. Als nächster Schritt erfolgt die Elution des BNP aus dem Säulenmaterial. Das Eluat wird in 13x75 mm Polystyrenröhrchen aufgefangen.

### Evaporation

Das Eluat muss bis zur Weiterverarbeitung vollständig eingetrocknet werden. Dazu werden sie über Nacht (8 – 12 Stunden) in einen Speed Vac Concentrator gegeben (Integrated Speed Vac® System ISS 100, Savant instruments, Inc., Farmingdale, NY, USA). Die Trocknung erfolgt bei Grad „low“. Die getrockneten Proben werden bis zur Durchführung des eigentlichen RIAs bei -70°C tiefgefroren.

### **3.2.2.3 Durchführung des Radioimmunoassays**

Bis zu ihrer Verwendung werden alle im RIA-Testkit verwendeten Agenzien bei -20°C aufbewahrt. Während der Durchführung des Radioimmunoassays müssen alle Schritte auf Eis durchgeführt und alle verwendeten Agenzien auf Eis gelagert werden. Für alle weiteren Schritte werden 13x75 mm Polystyrenröhrchen verwendet. Zum Mischen der Proben benutzt man einen Vortexer (Vortex Genie 2®, Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz).

## **Tag 1**

### **1. Herstellung des RIA-Puffers**

Das RIA-Pufferkonzentrat wird aufgetaut und mit genau 150 ml Aqua ad injectabile verdünnt. Dieser Puffer wird zum Auflösen aller weiteren Testkomponenten sowie der Proben verwendet.

### **2. Lösung des Standardpeptids**

Das Standardpeptid wird in 1 ml RIA-Puffer gelöst, mit Hilfe eines Vortexers (Vortex Genie 2®, Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz) für mindestens zwei Minuten gemischt und auf Eis gestellt. Die fertige Lösung besitzt eine BNP-Konzentration von 12,8 µg/ml.

### **3. Lösung des Kaninchen-Antiserums**

Das lyophilisierte Kaninchen-Antiserum wird in 13 ml RIA-Puffer gelöst, mit Hilfe eines Vortexers (Vortex Genie 2®, Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz) gut gemischt und auf Eis gestellt. Das Kaninchen-Antiserum entspricht dem primären Antikörper und bindet das BNP spezifisch.

### **4. Rekonstitution der zu untersuchenden Proben**

Die Proben werden in 250 µl RIA-Puffer gelöst. Die Proben werden nach dem Lösen wieder auf Eis gelagert.

### **5. Herstellung der Standardlösung**

Um Messungen der unbekanntenen Proben durchführen zu können, müssen Standardlösungen mit bekannter Konzentration hergestellt werden. Hierzu wird eine Verdünnungsreihe nach folgendem Schema angelegt:

Röhrchen	Probe	RIA-Puffer	Menge Standardpeptid in 100 µl
O	= 10µl des Standardpeptids	+ 990µl	
A	= 10µl von O	+ 990µl	128 pg/Röhrchen
B	= 500µl von A	+ 500µl	64 pg/Röhrchen
C	= 500µl von B	+ 500µl	32 pg/Röhrchen
D	= 500µl von C	+ 500µl	16 pg/Röhrchen
E	= 500µl von D	+ 500µl	8 pg/Röhrchen
F	= 500µl von E	+ 500µl	4 pg/Röhrchen
G	= 500µl von F	+ 500µl	2 pg/Röhrchen
H	= 500µl von G	+ 500µl	1 pg/Röhrchen

**Tabelle 4: Herstellung der Verdünnungsreihe**

#### 6. RIA-Ansatz

Zunächst werden die Röhrchen wie folgt beschriftet:

- a) TC-1 und TC-2 (Total Counts)
- b) NSB-1 und NSB-2 (Non-specific Binding)
- c) TB-1 und TB-2 (Total Binding)
- d) Nr. 7 bis Nr. 22 für die Standards H - A
- e) Nr. 23 bis Nr. 125 für die unbekanntenen Proben

Anschließend werden folgende Reagenzien zugesetzt:

- a) jeweils 200 µl RIA-Puffer in die TC- und NSB-Röhrchen
- b) jeweils 100 µl RIA-Puffer in die TB-Röhrchen
- c) jeweils 100 µl der Standards H – A in die Röhrchen Nr. 7 bis Nr. 22 (Es wird mit der niedrigsten Konzentration begonnen; das heißt 100 µl des Standards H werden in die Röhrchen 7 und 8 pipettiert, Standard G in die Röhrchen 9 und 10, etc.)
- d) Von den 250 µl der rekonstituierten Proben werden jeweils 100 µl in die Röhrchen Nr. 23 bis Nr. 125 pipettiert, so dass für jeden Patienten ein Doppelansatz entsteht.

#### 7. Zufügen des Kaninchen-Antiserums

Zu allen Proben, außer den TC- und NSB-Röhrchen, werden nun 100 µl des aufgelösten Kaninchen-Antiserums hinzugefügt.

## 8. Mischen und Inkubieren

Der Inhalt aller Röhrchen wird gut gemischt und bedeckt. Alle Röhrchen werden über Nacht bei 4°C stehen gelassen. Die Inkubationszeit beträgt 16 - 24 Stunden.

In den Röhrchen befinden sich zu diesem Zeitpunkt folgende Reagenzien:

Röhrchen	Inhalt	RIA Puffer	Standard oder Probe	Primärer AK
TC-1 / -2	Total Counts	200�l	--	--
NSB-1 / -2	Non-specific Binding	200�l	--	--
TB-1 / -2	Total binding	100�l	--	100�l
7+8	Standard H	--	100�l	100�l
9+10	Standard G	--	100�l	100�l
11+12	Standard F	--	100�l	100�l
13+14	Standard E	--	100�l	100�l
15+16	Standard D	--	100�l	100�l
17+18	Standard C	--	100�l	100�l
19+20	Standard B	--	100�l	100�l
21+22	Standard A	--	100�l	100�l
23+24	Unbekannte Probe 1	--	100�l	100�l
25+26	Unbekannte Probe 2	--	100�l	100�l
27+28	Unbekannte Probe 3	--	100�l	100�l
...	...	--	100�l	100�l

**Tabelle 5: Probenr hrcheninhalt nach Tag 1**

TC = Total Counts, NSB = Non-specific Binding, TB = Total Binding, AK = Antikörper

## Tag 2

### 1. Herstellung der Jod-125-Lösung

Das radioaktive Jod-125-Peptid wird zunächst in 13 ml RIA-Puffer gelöst, gut gemischt und auf Eis gelagert. Die Konzentration des Jod-125-Peptids muss zu diesem Zeitpunkt kontrolliert werden. Dafür werden 10 Öl aus der Lösung entnommen und im Gamma-Zähler gemessen (1470 Wizard® Gamma Counter, Wallac Oy, Turku, Finnland). Da die Konzentration in der fertigen Lösung etwa 8.000 bis 10.000 cpm/100 l betragen soll, müssen in der 10 Öl-Probe etwa 800 - 1.000 cpm vorhanden sein. Ist dies nicht der Fall, wird RIA-Puffer hinzugefügt bis die gewünschte Konzentration vorhanden ist.

## 2. Zusatz des Jod-125-Peptids

Zu jedem Röhrchen werden genau 100 µl des Jod-125-Peptids hinzugefügt. Die Proben müssen gut durchmischt werden. Anschließend werden sie bedeckt und erneut 16 - 24 Stunden bei 4°C inkubiert.

## Tag 3

### 1. Lösung des Ziege-Anti-Kaninchen-IgG (GAR)

Das lyophilisierte Pulver (Ziege-Anti-Kaninchen-IgG) wird in 13 ml des RIA-Puffers gelöst, gut durchmischt und auf Eis gestellt. Das GAR-Immunglobulin entspricht dem Anti-Antikörper und bindet an den primären Antikörper.

### 2. Lösung des normalen Kaninchen-Serums (NRS)

Das lyophilisierte Pulver (normales Kaninchen-Serum) wird mit 13 ml des RIA-Puffers gelöst, gut durchmischt und auf Eis gestellt.

### 3. Zusatz des primären Antikörpers

100 µl der hergestellten GAR-Immunglobulinlösung werden zu jedem Röhrchen aus den beiden TC-Röhrchen hinzugefügt.

### 4. Zusatz des normalen Kaninchen-Serums

Außer zu den beiden TC-Röhrchen werden 100 µl des NRS zu allen Röhrchen zugefügt. Alle Röhrchen werden gut gemischt und bei Raumtemperatur 90 Minuten lang inkubiert.

5. Zu allen Röhrchen werden 500 µl RIA-Puffer hinzugegeben. Danach werden alle Proben bei 1.700 xg für 20 Minuten bei 4°C zentrifugiert.

6. Aus allen Röhrchen wird der Überstand vorsichtig abgeschüttet. Dabei darf keinerlei feste Substanz mit ausgeschüttet werden. Aus den NSB- und TC-Röhrchen wird nichts abgeschüttet, da sich hier kein Pellet gebildet hat.

7. Die Radioaktivität der Proben wird im Gamma-Counter gemessen (1470 Wizard® Gamma Counter, Wallac Oy, Turku, Finnland). Sowohl die „Counts per minute“ als auch die Konzentration in pg/100µl werden durch das Gerät berechnet und ausgedruckt.

### **3.3 Datenauswertung und Dokumentation**

Die Patientendaten wurden in einer multiplen Regressionsanalyse mit dem Statistikprogramm SPSS® für Windows ausgewertet (Statistical Package for the Social Science, Version 11,5, SPSS GmbH, München, Deutschland). Einige Angaben in den folgenden Tabellen sind daher englisch beschriftet. Als Signifikanzniveau wird 0,05 festgelegt.

#### **3.3.1 ISACHC-Klassen**

Die Patienten wurden mittels Vorbericht, klinischer Untersuchung und nach Bedarf mittels Röntgenbildern der Lunge den Gruppen der ISACHC-Klassifizierung zugeteilt. Die Einteilung erfolgte in die Gruppen: „asymptomatischer Patient“, „Patient mit gering- oder mittelgradigem Herzversagen“ oder „Patient mit fortgeschrittenem Herzversagen“. Um eine weitere, genauere Unterteilung vornehmen zu können, musste die sonographische Untersuchung als weiteres Diagnostikum hinzugezogen werden.

Auch der Schweregrad der verschiedenen zugrunde liegenden Herzkrankheiten wurde mit Hilfe der sonographischen Untersuchung zugeordnet. Patienten mit okkult dilatativer Kardiomyopathie wurde der Grad „okkult“ zugeteilt. Weiterhin wurden je nach sonographischem und gegebenenfalls röntgenologischem Befund die Grade „gering-“, „mittel-“ und „hochgradig“ vergeben. Bei Krankheiten – wie beispielsweise der Dirofilariose – bei denen eine solche Einteilung nicht üblich ist, wurde die Bezeichnung „kein Grad“ verwendet.

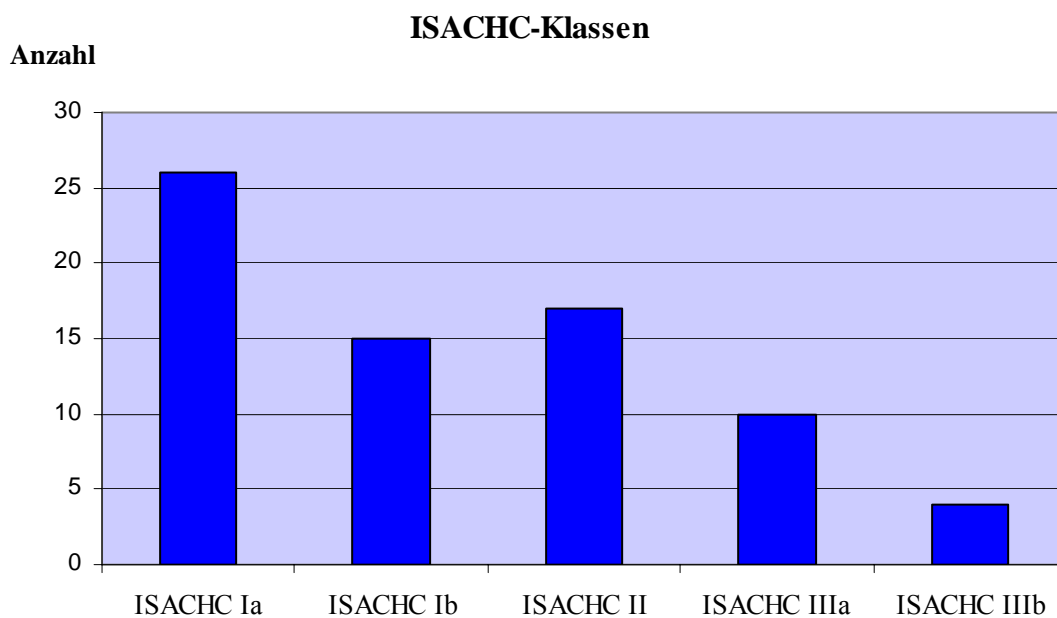
In die ISACHC-Klassen wurden die Patienten also aufgrund ihres klinischen Erscheinungsbildes eingeteilt. Den zugrunde liegenden Herzkrankheiten hingegen wurde ein bestimmter Schweregrad zugeordnet, der sich üblicherweise durch das funktionelle und morphologische Erscheinungsbild des Herzens definiert.

In der Gruppe der asymptomatischen Patienten befanden sich 41 der 72 untersuchten Hunde. 14 Patienten zeigten bereits geringgradige bis mittelgradige Symptome, 17 Patienten hatten bereits Symptome von Herzversagen. Abbildung 5 zeigt die Einteilung der 72 untersuchten Hunde in die fünf ISACHC-Klassen.

ISACHC-Klasse	Anzahl der Hunde	Prozent	Prozent valide	Prozent kumulativ
I a	26	36,1	36,1	36,1
I b	15	20,8	20,8	56,9
II	17	23,6	23,6	80,6
III a	10	13,9	13,9	94,4
III b	4	5,6	5,6	100,0
Total	72	100	100	

**Tabelle 6: Häufigkeit ISACHC-Klassen**

Ia = ISACHC Ia, Ib = ISACHC Ib, II = ISACHC II, IIIa = ISACHC IIIa, IIIb = ISACHC IIIb



**Abbildung 4: Einteilung der Patienten in die ISACHC-Klassen**

### **3.3.1.1 Patienten der Klasse ISACHC Ia**

#### **Befunde**

In Tabelle 7 sind alle Herzbefunde sowie die BNP-Werte aller 26 Patienten aus Klasse ISACHC Ia aufgelistet. Bei sechs Patienten war aus dem Vorbericht eine Leistungsschwäche bekannt (Patienten 7, 9, 10, 11, 12 und 13). Bei diesen Patienten konnten jedoch – zusätzlich zum Herzbefund – weitere Krankheiten festgestellt werden, die für die Leistungsschwäche verantwortlich waren. Zwei Patienten litten an aufregungsbedingtem Husten mit Verdacht auf einen Trachealkollaps (Patienten 5 und 10). Bei zwei weiteren Patienten konnte eine Bronchitis diagnostiziert werden (Patienten 19 und 22). Keiner der Patienten zeigte eine kardial bedingte Leistungsschwäche, eine erhöhte Ruhe-Atemfrequenz oder Husten. Bei keinem der Patienten konnte in der sonographischen Untersuchung eine atriale oder linksventrikuläre Dilatation festgestellt werden. Die linksventrikulären Durchmesser wurden anhand von gewichtsabhängigen Tabellen überprüft (146).



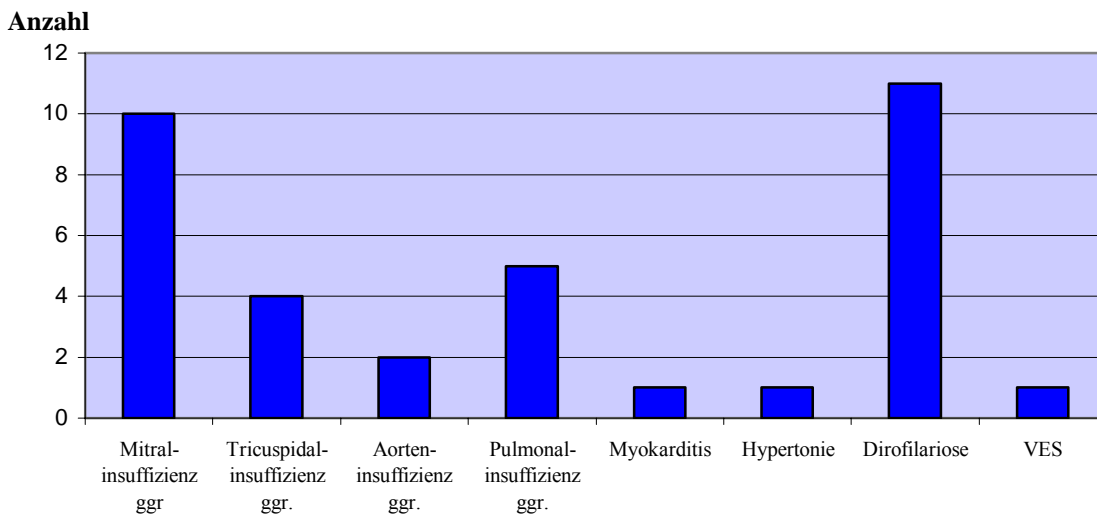
Nr.	Herz- befund	Weitere Befunde / Symptome	Leistungs- schwäche	Husten	LA/Ao	Subjektive Stau- ung	LV- Dilatation	BNP [pg/ml]
<b>1</b>	ggr. MI	-	-	-	1,94	-	-	<b>34,51</b>
<b>2</b>	ggr. MI	ggr. AoI	-	-	1,50	-	-	<b>132,95</b>
<b>3</b>	ggr. MI	ggr. Pul	-	-	1,42	-	-	<b>37,85</b>
<b>4</b>	ggr. MI	ggr. Pul	-	-	1,54	-	-	<b>17,66</b>
<b>5</b>	ggr. MI	ggr. TI	-	+	1,92	-	-	<b>9,16</b>
<b>6</b>	ggr. MI	-	-	-	2,00	-	-	<b>27,88</b>
<b>7</b>	ggr. TI	-	ggr.	-	1,73	-	-	<b>9,04</b>
<b>8</b>	ggr. MI	-	-	-	1,69	-	-	<b>49,53</b>
<b>9</b>	ggr. MI	-	ggr.	-	1,70	-	-	<b>17,85</b>
<b>10</b>	ggr. MI	-	ggr.	+	1,91	-	-	<b>37,61</b>
<b>11</b>	ggr. AoI	-	ggr.	-	1,75	-	-	<b>21,86</b>
<b>12</b>	ggr. Pul	VES	ggr.	-	1,46	-	-	<b>46,44</b>
<b>13</b>	Myok	-	mgr.	-	1,79	-	-	<b>54,32</b>
<b>14</b>	ggr. TI	-	-	-	1,63	-	-	<b>41,24</b>
<b>15</b>	Hyper	-	-	-	1,30	-	-	<b>31,63</b>
<b>16</b>	Dirof	-	-	-	1,78	-	-	<b>25,61</b>
<b>17</b>	Dirof	-	-	-	1,82	-	-	<b>19,05</b>
<b>18</b>	Dirof	ggr. MI	-	-	1,75	-	-	<b>9,97</b>
<b>19</b>	Dirof	-	-	+	1,72	-	-	<b>45,59</b>

Nr.	Herz- befund	Weitere Befunde / Symptome	Leistungs- schwäche	Husten	LA/Ao	Subjektive Stau- ung	LV- Dilatation	BNP [pg/ml]
<b>20</b>	Dirof	-	-	-	1,65	-	-	<b>12,86</b>
<b>21</b>	Dirof	-	-	-	1,21	-	-	<b>41,08</b>
<b>22</b>	Dirof	ggr. TI	-	+	1,52	-	-	<b>15,51</b>
<b>23</b>	Dirof	-	-	-	1,64	-	-	<b>46,34</b>
<b>24</b>	Dirof	-	-	-	1,78	-	-	<b>22,36</b>
<b>25</b>	Dirof	-	-	-	1,44	-	-	<b>31,03</b>
<b>26</b>	Dirof	ggr. PuI	-	-	1,57	-	-	<b>7,89</b>

**Tabelle 7: Herzbefunde und BNP-Plasmakonzentrationen der Patienten der Klasse ISACHC Ia**

AoI = Aortenklappeninsuffizienz, DCM = dilatative Kardiomyopathie, Dirof = Dirofilariose, ggr. = geringgradig, Hypert = Hypertonie, LA/Ao = linkes Atrium/Aortenbulbus, LV-Dilatation = linksventrikuläre Dilatation, mgr. = mittelgradig, MI = Mitralklappeninsuffizienz, Myok = Verdacht auf Myokarditis, Nr. = Patientennummer, PuI = Pulmonalklappeninsuffizienz, re = rechts, TI = Trikuspidalklappeninsuffizienz, VES = ventrikuläre Extrasystolen

## Herzbefunde ISACHC Ia



**Abbildung 5: Übersicht der Herzbefunde der Patienten der Klasse ISACHC Ia**

Aorteninsuffizienz = Aortenklappeninsuffizienz, ggr. = geringgradig, Mitralinsuffizienz = Mitralklappeninsuffizienz, Pulmonalinsuffizienz = Pulmonalklappeninsuffizienz, Trikuspidalinsuffizienz = Trikuspidalklappeninsuffizienz, VES = Ventrikuläre Extrasystolen

Bei zehn der 26 Patienten konnten weitere, nicht-kardial bedingte Krankheiten festgestellt werden. Diese Erkrankungen interferierten nicht mit der Einteilung der Patienten in die ISACHC-Klassen. Lediglich bei einem Patienten mit Fieber unbekannter Genese (Patient 11) konnte ein Zusammenhang von Allgemeinerkrankung und kardialer Krankheit nicht vollständig ausgeschlossen werden. Allerdings hatte auch bei diesem Patienten die Allgemeinerkrankung keinen Einfluss auf die Einteilung in die ISACHC-Klasse Ia.

Nr.	nicht-kardial bedingte Erkrankungen	
<b>2</b>	Fieber unbekannter Genese	<b>13</b> DIC, Abszess
<b>5</b>	Verdacht auf Trachealkollaps	<b>17</b> Ehrlichiose
<b>10</b>	Verdacht auf Trachealkollaps	<b>19</b> Bronchitis
<b>11</b>	Fieber unbekannter Genese	<b>22</b> Babesiose, Bronchitis
<b>12</b>	Duraverknöcherung im HWS-Bereich	<b>26</b> Babesiose, Ehrlichiose, Coxarthrose

**Tabelle 8: nicht-kardial bedingte Erkrankungen der Patienten der Klasse ISACHC Ia**

DIC = disseminierte intravasale Gerinnung, HWS = Halswirbelsäule, Nr. = Patientenummer

## **Auswertung**

Für die Patienten der Klasse ISACHC Ia ergibt sich für die BNP-Plasmakonzentration ein Mittelwert von 32,57 pg/ml (95%-Konfidenzintervall: [22,54; 42,60]), mit einer minimalen Konzentration von 7,89 pg/ml und einer maximalen Konzentration von 132,65 pg/ml. In der vorliegenden Gruppe lag der Median bei 29,46 pg/ml mit einer Standardabweichung von 24,83. Für das Verhältnis von linkem Atrium zu Aortenbulbus (LA/Ao) ergibt sich bei den Patienten dieser Gruppe ein Mittelwert von 1,65, mit einem Minimum von 1,21 und einem Maximum von 2,0. Der Median lag bei 1,67, die Standardabweichung betrug 0,197.

### **3.3.1.2 Patienten der Klasse ISACHC Ib**

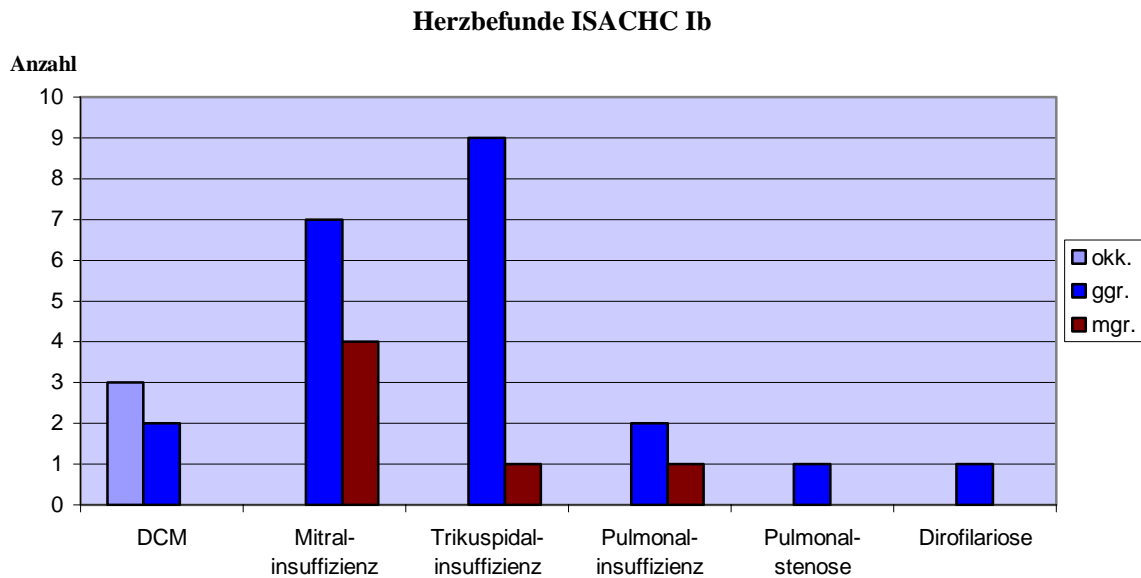
#### **Befunde**

In die Klasse ISACHC Ib wurden 15 Patienten eingeteilt, deren Befunde in Tabelle 9 aufgelistet sind. Anamnestisch wurde bei drei dieser Patienten eine geringgradige, bei einem Patienten eine mittelgradige Leistungsschwäche festgestellt (Patienten 27, 28, 39 und 40). Definitionsgemäß werden Patienten mit Leistungsschwäche in der ISACHC-Klassifizierung bereits in die Klasse II eingeteilt. Die hier vorgestellten Hunde wurden dennoch in die Klasse Ib eingeteilt, da weitere Krankheiten diagnostiziert wurden, die für eine veränderte Leistungsbereitschaft oder für die Leistungsschwäche verantwortlich sein können. Die sonographische Untersuchung des Herzens bestätigte die klinische Einteilung. Zwei Patienten wurden mit leichtem Husten vorgestellt (Patienten 31 und 40). Bei beiden Tieren konnte eine kardiale Ursache des Hustens durch die sonographische Untersuchung ausgeschlossen werden. Bei zwölf Patienten bestanden subjektiv Stauungserscheinungen im rechten oder linken Atrium (Patienten 29, 30, 31, 32 und 34 bis 41). Bei drei dieser Patienten sowie einem weiteren Patienten mit erniedrigter Verkürzungsfraction waren auch die linksventrikulären Diameter über dem Referenzbereich (Patienten 33, 35, 38 und 41). Zwei Patienten fielen in der kardiologischen Untersuchung lediglich durch eine niedrige Verkürzungsfraction auf (FS, fractional shortening). Es bestand bei beiden Tieren der Verdacht auf eine okkulte DCM (Patienten 27 und 28).

Nr.	Herz- befund	Weitere Befunde / Symptome	Leistungs- schwäche	Husten	LA/Ao	Subjektive Stauung	LV- Dilatation	FS max	BNP [pg/ml]
27	okk. DCM	-	ggr.	-	1,39	-	-	15%	<b>88,84</b>
28	okk. DCM	-	ggr.	-	1,54	-	-	22%	<b>22,17</b>
29	ggr. MI	ggr. TI	-	-	1,33	ggr.	-		<b>45,13</b>
30	ggr. PS	ggr. TI, mgr. PuI	-	-	1,33	ggr.	-		<b>48,62</b>
31	ggr. MI	ggr. TI	-	+	1,87	ggr.	-		<b>35,08</b>
32	ggr. MI	ggr. TI	-	-	1,36	ggr.	-		<b>70,84</b>
33	okk. DCM	-	-	-	1,66	-	ggr.	21%	<b>55,72</b>
34	ggr. MI	ggr. TI	-	-	1,77	ggr.	-		<b>44,61</b>
35	mgr. MI	mgr. TI	-	-	1,40	ggr.	ggr.		<b>33,18</b>
36	mgr. MI	ggr. TI	-	-	2,31	ggr.	-		<b>26,54</b>
37	ggr. MI	ggr. TI, ggr. PuI	-	-	1,55	ggr. re	-		<b>76,92</b>
38	ggr. DCM	mgr. MI	-	-	2,08	ggr.	ggr.	20%	<b>10,97</b>
39	mgr. MI	ggr. TI	ggr.	-	1,60	ggr.	-		<b>44,76</b>
40	Dirof	ggr. MI, ggr. TI, ggr. PuI	mgr.	+	1,63	ggr. re	-		<b>187,55</b>
41	ggr. DCM	ggr. MI	-	-	2,11	mgr.	mgr.		<b>26,9</b>

**Tabelle 9: Herzbefunde und BNP-Plasmakonzentrationen der Patienten der Klasse ISACHC Ib**

DCM = dilatative Kardiomyopathie, Dirof = Dirofilariose, FS = fractional shortening, ggr. = geringgradig, LA/Ao = linkes Atrium/Aortenbulbus, LV-Dilatation = linksventrikuläre Dilatation, max = maximal, mgr. = mittelgradig, MI = Mitralklappeninsuffizienz, Nr. = Patientenummer, okk. = okkult, PS = Pulmonalstenose, PuI = Pulmonalklappeninsuffizienz, re = rechts, TI = Trikuspidalklappeninsuffizienz



**Abbildung 6: Übersicht der Herzbefunde der Patienten der Klasse ISACHC Ib**

DCM = dilatative Kardiomyopathie, ggr. = geringgradig, Mitralinsuffizienz = Mitralklappeninsuffizienz, mgr. = mittelgradig, okk. = okkult, Pulmonalinsuffizienz = Pulmonalklappeninsuffizienz, Trikuspidalinsuffizienz = Trikuspidalklappeninsuffizienz

Bei fünf Patienten dieser Gruppe wurden auch nicht-kardiale Krankheiten diagnostiziert (siehe Tabelle 10). Da bei dem Patienten Nr. 27 der Verdacht auf eine Hypothyreose bestand, ist es möglich, dass diese Grundkrankheit mit dem kardialen Befund interagiert. Für die Einteilung in die Klasse Ib spielte der erniedrigte T4-Wert jedoch keine Rolle, da sich die Klassifizierung nach den Folgen richtete. Bei Patient Nr. 33 bestand nach der kardiologischen Untersuchung der Verdacht auf eine okkulte dilatative Kardiomyopathie. Die Ursache für die verringerte Verkürzungsfraction und die geringgradige Dilatation war nicht zu erkennen. Neben Krankheiten wie Myokarditis, Mitralinsuffizienz und ähnlichen Krankheiten, besteht hier auch die Möglichkeit einer primären Dilatation – also einer dilatativen Kardiomyopathie – oder einer Dilatation als Folge der bei diesem Patienten durchgeführten Chemotherapie. Dieser Patient wurde in die Klasse Ib eingeordnet, da er klinisch keine kardialen Symptome zeigte, sonographisch aber durch geringgradige Stauungserscheinungen und eine erniedrigte Verkürzungsfraction auffiel. Der Verdacht auf Hyperadrenokortizismus bei Patient Nr. 39 konnte durch die durchgeführten Untersuchungen weder bestätigt noch ausgeschlossen werden. Weiteren Untersuchungen stimmten die Besitzer nicht zu. Der Patient zeigte keine Hypertonie. Die nicht-kardiale Krankheit interferierte somit nicht mit dem Befund am Herzen.

Nr.	nicht-kardial bedingte Erkrankungen
27	Verdacht auf Hypothyreose, multiple Arthrosen
28	Verdacht auf beginnende Niereninsuffizienz, Harnwegsinfektion
33	Hämangiosarkom, Chemotherapie
39	Verdacht auf Hyperadrenokortizismus
40	Leishmaniose, Ehrlichiose

**Tabelle 10: nicht-kardial bedingte Erkrankungen der Patienten der Klasse ISACHC Ib**

### **Auswertung**

Für die Patienten der Klasse ISACHC Ib ergibt sich für die BNP-Plasmakonzentration ein Mittelwert von 54,52 pg/ml [30,99; 78,06], mit einer minimalen Konzentration von 10,97 pg/ml und einer maximalen Konzentration von 187,55 pg/ml. Der Median lag in dieser Gruppe bei 44,76 pg/ml mit einer Standardabweichung von 42,49. Für das Verhältnis von linkem Atrium zum Aortenbulbus (LA/Ao) ergibt sich bei den Patienten dieser Gruppe ein Mittelwert von 1,66, mit einem Minimum von 1,33 und einem Maximum von 2,31. Der Median lag bei 1,6 und die Standardabweichung betrug 0,309.

### **3.3.1.3 Patienten der Klasse ISACHC II**

#### **Befunde**

Eine gering- bis mittelgradige Leistungsschwäche war bei allen 17 Patienten der Klasse II aus der Anamnese bekannt. Fünf Tiere hatten – zusätzlich zum kardiologischen Befund – weitere Krankheiten, die zu einer Leistungsschwäche führen können (Patienten 44, 47, 53, 54 und 58). Elf Patienten wurden mit Husten vorgestellt (Patienten 42, 43, 46, 47, 48, 49, 50, 53, 55, 56 und 58). Bei drei dieser Tiere wurde ein gering- oder mittelgradiges Lungenödem diagnostiziert (Patienten 42, 40 und 56). Einer dieser Hunde sowie ein Patient ohne Hustensymptomatik hatten bereits eine Synkope (Patienten 44 und 46). Nur bei einem Patienten wurde bei der sonographischen Untersuchung ein geringgradiger Thoraxerguss festgestellt (Patient 58). Bei einem weiteren Patienten zeigte das EKG immer wieder ventrikuläre Extrasystolen (max. 3/min). Sie führten zu keiner hämodynamischen Beeinträchtigung (Patient 46). 16 der 17 Patienten zeigten gering- bis hochgradige Stauungserscheinungen am linken Atrium. Der einzige Patient ohne eine linksatriale Dilatation litt an einer Pulmonalstenose (Patient 49).

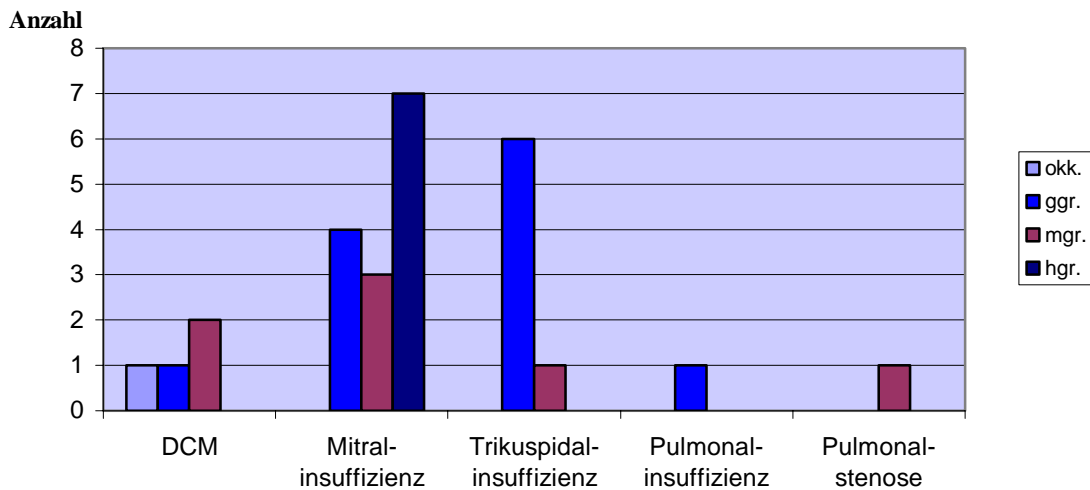
Nr.	Herz- befund	Weitere Befunde / Symptome	Leistungs- schwäche	Husten	LA/Ao	Subjektive Stauung	LV- Dilatation	FS max	BNP [pg/ml]
42	mgr. DCM	mgr. LgÖ	mgr.	+	2,03	mgr.	mgr.	16%	<b>164,2</b>
43	hgr. MI	ggr. TI	ggr.	+	2,01	ggr.	-		<b>65,01</b>
44	mgr. MI	ggr. TI, ggr. PuI, Synk	ggr.	-	1,69	ggr.	ggr.		<b>42,16</b>
45	ggr. MI	-	ggr.	-	2,12	ggr.	ggr.		<b>32,16</b>
46	ggr. MI	ggr. TI, VES, Synk	ggr.	+	1,65	ggr.	-		<b>74,73</b>
47	mgr. DCM	-	mgr.	+	2,10	mgr.	hgr.	16%	<b>161,7</b>
48	hgr. MI	-	ggr.	+	2,61	mgr.	-		<b>48,76</b>
49	mgr. PS	ggr. MI, TI	mgr.	+	1,40	-	-		<b>69,84</b>
50	hgr. MI	ggr. LgÖ	ggr.	+	2,89	mgr.	mgr.		<b>28,38</b>
51	hgr. MI	-	ggr.	-	3,27	mgr.	mgr.		<b>83,68</b>
52	mgr. MI	ggr. TI	ggr.	-	2,41	ggr.	mgr.		<b>89,69</b>
53	okk. DCM	-	ggr.	+	1,73	ggr.	-	20%	<b>128,4</b>
54	hgr. MI	mgr. TI	mgr.	-	1,81	mgr.	ggr.		<b>49,57</b>
55	ggr. DCM	ggr. MI	ggr.	+	1,72	mgr.	Hgr.	19%	<b>239</b>
56	hgr. MI	ggr. LgÖ	ggr.	+	3,33	hgr.	Hgr.		<b>64,15</b>
57	hgr. MI	ggr. TI	ggr.	-	2,85	ggr.	mgr.		<b>99,48</b>
58	mgr. MI	ggr. TE	ggr.	+	2,29	ggr.	-		<b>201,1</b>

**Tabelle 11: Herzbefunde und BNP-Plasmakonzentrationen der Patienten der Klasse ISACHC II**

DCM = dilatative Kardiomyopathie, FS = fractional shortening, ggr. = geringgradig, hgr. = hochgradig, LA/Ao = linkes Atrium/Aortenbulbus, LgÖ = Lungenödem, LV-Dilatation = linksventrikuläre Dilatation, max = maximal, mgr. = mittelgradig, MI = Mitralklappeninsuffizienz, Nr. = Patientenummer, okk. = okkult, PS = Pulmonalstenose, PuI = Pulmonalklappeninsuffizienz, Synk = Synkope, TE = Thoraxerguß, TI = Trikuspidalklappeninsuffizienz



## Herzbefunde ISACHC II



**Abbildung 7: Übersicht der Herzbefunde der Patienten der Klasse ISACHC II**

DCM = dilatative Kardiomyopathie, ggr. = geringgradig, hgr. = hochgradig, mgr. = mittelgradig, Mitralinsuffizienz = Mitralklappeninsuffizienz, okk. = okkult, Pulmonalinsuffizienz = Pulmonalklappeninsuffizienz, Trikuspidalinsuffizienz = Trikuspidalklappeninsuffizienz

Sechs Patienten litten an weiteren, nicht-kardial bedingten Krankheiten (siehe Tabelle 12). Zwei Hunde mit diagnostizierter Hypothyreose zeichneten sich in der sonographischen Untersuchung mit einer erniedrigten Verkürzungsfraction aus. Die Verkürzungsfraction betrug in beiden Fällen maximal 20 Prozent. Außer bei diesen beiden Patienten bestand bei keinem Patienten ein Zusammenhang zwischen den kardialen und den nicht-kardialen Krankheiten. Bei zwei weiteren Tieren konnte in der sonographischen Untersuchung der Milz eine Umfangsvermehrung dargestellt werden. Weitere Diagnostik wurde auf Wunsch der Besitzer nicht durchgeführt. Einem Patienten wurde zwei Wochen vor der kardiologischen Untersuchung ein Rundzellsarkom der Mundschleimhaut entfernt. Ein Rezidiv oder auch Metastasen traten bis zum Abschluss der vorliegenden Studie nicht auf. Ein Patient wurde mit Pankreatitis und dem Verdacht auf Hyperadrenokortizismus vorgestellt. Bei diesem Patienten konnte keine Hypertonie festgestellt werden. Der Patient verstarb, bevor weitere Diagnostik bezüglich des Hyperadrenokortisolismus eingeleitet werden konnte.

Nr.	Nicht-kardial bedingte Erkrankungen
44	Pankreatitis, Verdacht auf Hyperadrenokortizismus
47	Hypothyreose
53	Hypothyreose
54	Umfangvermehrung Milz
57	Rundzellsarkom
58	Umfangvermehrung Milz

**Tabelle 12: nicht-kardial bedingte Erkrankungen der Patienten der Gruppe ISACHC II**

### **Auswertung**

Für die Patienten der Klasse ISACHC II ergibt sich für die BNP-Plasmakonzentration ein Mittelwert von 98,35 pg/ml [66,95; 129,75], mit einer minimalen Konzentration von 28,38 pg/ml und einer maximalen Konzentration von 239 pg/ml. Der Median lag in dieser Gruppe bei 83,68 pg/ml mit einer Standardabweichung von 61,06. Für das Verhältnis von linkem Atrium zum Aortenbulbus (LA/Ao) ergibt sich bei den Patienten dieser Gruppe ein Mittelwert von 2,23, mit einem Minimum von 1,4 und einem Maximum von 3,33. Der Median lag bei 2,1 und die Standardabweichung betrug 0,58.

#### **3.3.1.4 Patienten der Klasse ISACHC IIIa**

##### **Befunde**

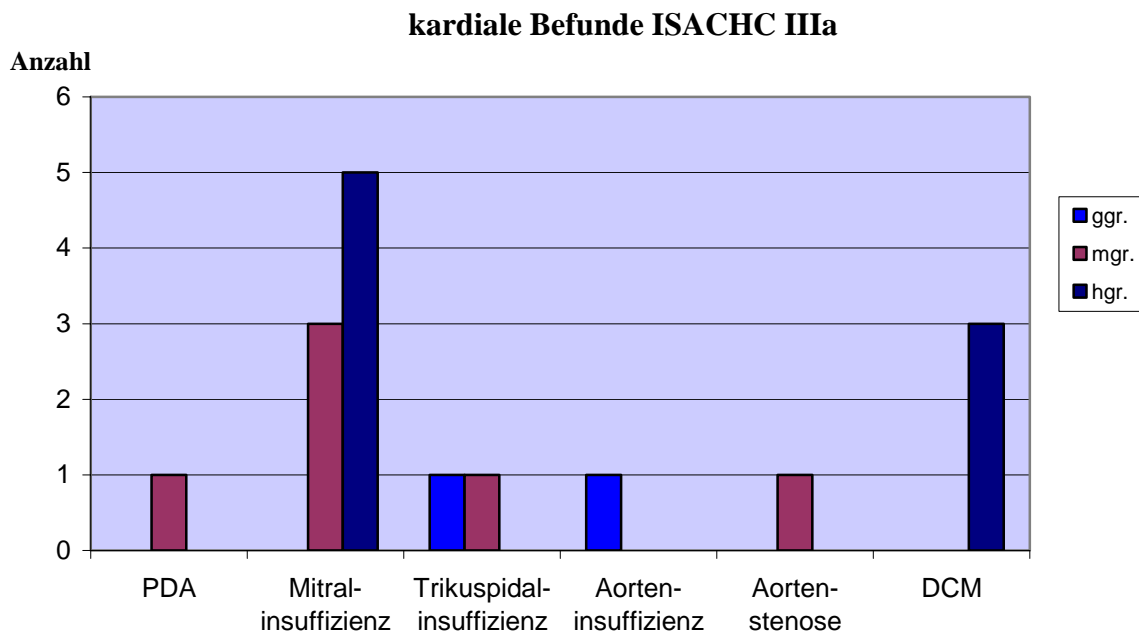
Zehn Patienten wurden in die Klasse ISACHC IIIa eingeordnet. Bis auf einen Patienten, der nur geringgradige Symptome zeigte, litten alle Tiere unter mittel- bis hochgradiger Leistungsschwäche. Alle Patienten der Klasse ISACHC IIIa waren akut behandlungsbedürftig. Bei fünf Hunden war eine Hustensymptomatik bekannt (Patienten 62, 63, 65, 66 und 68). Drei dieser Tiere und ein weiterer Hund zeigten Dyspnoe (Patienten 63, 64 und 65). Die drei genannten Tiere hatten bereits mindestens eine Synkope. Bis auf einen Patienten (Patient 59) zeigten alle Tiere sowohl objektiv als auch subjektiv mindestens mittelgradige Stauungserscheinungen am linken Atrium. Auch der linksventrikuläre Diameter war sowohl in der Diastole als auch der Systole mittel- bis hochgradig dilatiert.

Patient 59 mit nur mittelgradiger Mitralklappeninsuffizienz und geringgradiger Aortenklappeninsuffizienz zeigte nur geringgradige Stauungserscheinungen. Auffällig waren jedoch hochgradige Muskelveränderungen mit hypo- und hyperechogenen Bezirken im Ventrikelmyokard. Der septumständige Papillarmuskel war bei diesem Patienten hochgradig hypertroph. Das Gesamtbild führte zum Verdacht einer Myokarditis. Bei drei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie war die Verkürzungsfraction deutlich erniedrigt und lag maximal bei 15 Prozent (Patienten 61, 62 und 67). Bei Patient 64, der mit einem Ductus Arteriosus Persistens vorgestellt wurde, entstand – durch das erhöhte Volumenangebot im kleinen Kreislauf - eine relative Aortenstenose.

Nr.	Herz-Befund	Weitere Befunde / Symptome	Leistungsschwäche	Husten	LA/Ao	Subjektive Stauung	LV-Dilatation	FS max	BNP [pg/ml]
<b>59</b>	mgr. MI	ggr. AoI, V.a. Myokarditis	mgr.	-	1,75	-			<b>197,9</b>
<b>60</b>	hgr. MI	mgr. TI	ggr.	-	2,7	mgr.	hgr.		<b>158,7</b>
<b>61</b>	hgr. DCM	VF	hgr.	-	3,28	hgr.	hgr.	2%	<b>173,3</b>
<b>62</b>	hgr. DCM		mgr.	+	2,64	hgr.	mgr.	12%	<b>95,77</b>
<b>63</b>	hgr. MI	VF, Synk, Dys	mgr.	+	3,47	hgr.	hgr.		<b>277,7</b>
<b>64</b>	PDA	mgr. MI, AS, Synk, Dys	mgr.	-	2,93	hgr.	hgr.		<b>229,8</b>
<b>65</b>	hgr. MI	ggr. TI, Synk, Dys	mgr.	+	2,7	mgr.	mgr.		<b>249,7</b>
<b>66</b>	hgr. MI	Synk, Dys	hgr.	+	4,77	hgr.	hgr.		<b>42,2</b>
<b>67</b>	hgr. DCM	mgr. MI	mgr.	-	2,11	mgr.	mgr.	15%	<b>182,8</b>
<b>68</b>	hgr. MI		mgr.	+	3,88	hgr.	hgr.		<b>86,99</b>

**Tabelle 13: Herzbefunde und BNP-Plasmakonzentrationen der Patienten der Klasse ISACHC IIIa**

AoI = Aortenklappeninsuffizienz, AS = Aortenstenose, DCM = dilatative Kardiomyopathie, Dys = Dyspnoe, FS = fractional shortening, ggr. = geringgradig, hgr. = hochgradig, LA/Ao = linkes Atrium/Aortenbulbus, LV-Dilatation = linksventrikuläre Dilatation, mgr. = mittelgradig, MI = Mitralklappeninsuffizienz, Nr. = Patientennummer, PDA = Ductus Arteriosus Persistens, Synk = Synkope, TI = Trikuspidalklappeninsuffizienz, V.a. = Verdacht auf, VF = Vorhofflimmern



**Abbildung 8: Übersicht der Herzbefunde der Patienten der Klasse ISACHC III a**

Aorteninsuffizienz = Aortenklappeninsuffizienz, DCM = dilatative Kardiomyopathie, ggr. = geringgradig, hgr. = hochgradig, mgr. = mittelgradig, Mitralinsuffizienz = Mitralklappeninsuffizienz, PDA = Ductus Arteriosus Persistens, Trikuspidalinsuffizienz = Trikuspidalklappeninsuffizienz

### Auswertung

Für die Klasse ISACHC IIIa ergibt sich für die BNP-Plasmakonzentration ein Mittelwert von 169,48 pg/ml [115,46; 223,51], mit einer minimalen Konzentration von 42,2 pg/ml und einer maximalen Konzentration von 277,69 pg/ml. Der Median lag in dieser Gruppe bei 178,06 pg/ml mit einer Standardabweichung von 75,52. Für das Verhältnis von linkem Atrium zu Aortenbulbus (LA/Ao) ergibt sich bei den Patienten dieser Gruppe ein Mittelwert von 3,02, mit einem Minimum von 1,75 und einem Maximum von 4,77. Der Median lag bei 2,82 und die Standardabweichung betrug 0,87.

### **3.3.1.5 Patienten der Klasse ISACHC IIIb**

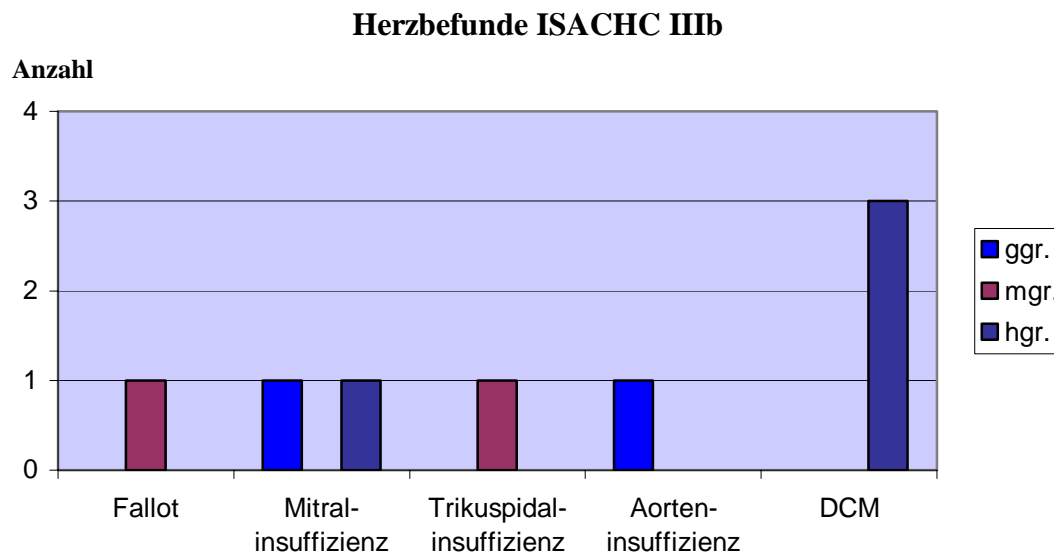
#### **Befunde**

Nur vier Patienten erfüllten die Kriterien der Klasse IIIb. Alle Patienten dieser Klasse wurden mit Herzversagen vorgestellt. Ohne stationäre Behandlung war ein Überleben nicht zu garantieren. Bei zwei Patienten war aus dem Vorbericht mindestens eine Synkope bekannt, bei den beiden anderen Tieren konnte eine hochgradige Dyspnoe festgestellt werden, verursacht durch ein hochgradiges Lungenödem. Drei Tiere hatten mittel- oder hochgradige Stauungserscheinungen im linken Atrium und im linken Ventrikel. Bei diesen drei Tieren konnte eine hochgradige dilatative Kardiomyopathie diagnostiziert werden. Die Verkürzungsfraction lag bei keinem Tier über 19 Prozent. Der vierte Patient dieser Gruppe zeigte geringgradige Stauungserscheinungen. Kein Patient der Klasse IIIb hatte weitere, nicht-kardial bedingte Krankheiten.

Nr.	Herz-Befund	Weitere Befunde / Symptome	Leistungsschwäche	Husten	LA/Ao	subjektive Stauung	LV-Dilatation	FS max	BNP [pg/ml]
<b>69</b>	hgr. DCM	VF, hgr. MI, hgr. TI, Synkope	mgr.	+	3,12	hgr.	hgr.	16%	<b>166,9</b>
<b>70</b>	hgr. DCM	Dyspnoe, Lungenödem	ggr.	+	2,56	mgr.	mgr.	19%	<b>156,4</b>
<b>71</b>	hgr. DCM	SVT, Dyspnoe, Lungenödem	hgr.	+	3,05	hgr.	hgr.	11%	<b>140,3</b>
<b>72</b>	Fallot Tetralogie	AV III, ggr. AoI, ggr. MI, Synkope	mgr.	-	1,5	ggr.	ggr.		<b>139,4</b>

**Tabelle 14: Herzbefunde und BNP-Plasmakonzentrationen der Patienten der Klasse ISACHC IIIb**

AoI = Aortenklappeninsuffizienz, AV III = Atrioventrikular Block III. Grades, DCM = dilatative Kardiomyopathie, Fallot = Fallot Tetralogie, FS = fractional shortening, ggr. = geringgradig, hgr. = hochgradig, LA/Ao = linkes Atrium/Aortenbulbus, LV-Dilatation = linksventrikuläre Dilatation, mgr. = mittelgradig, MI = Mitralklappeninsuffizienz, Nr. = Patientennummer, SVT = supraventrikuläre Tachykardie, TI = Trikuspidalklappeninsuffizienz, VF = Vorhofflimmern



**Abbildung 9: Übersicht der Herzbefunde der Patienten der Klasse ISACHC IIIb**

Aorteninsuffizienz = Aortenklappeninsuffizienz, DCM = dilatative Kardiomyopathie, Fallot = Fallot Tetralogie, ggr. = geringgradig, hgr. = hochgradig, Mitralinsuffizienz = Mitralklappeninsuffizienz, mgr. = mittelgradig, Trikuspidalinsuffizienz = Trikuspidalklappeninsuffizienz

### Auswertung

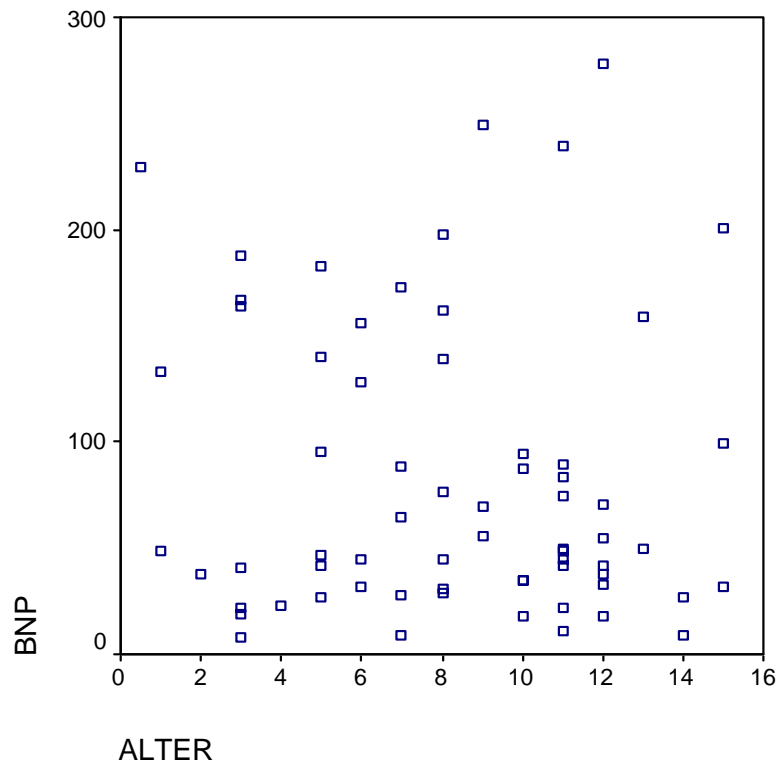
Für die Klasse ISACHC IIIb ergibt sich für die BNP-Plasmakonzentration ein Mittelwert von 150,77 pg/ml [129,62; 171,93], mit einer minimalen Konzentration von 139,43 pg/ml und einer maximalen Konzentration von 166,91 pg/ml. Der Median lag in dieser Gruppe bei 148,39 pg/ml mit einer Standardabweichung von 13,29. Für das Verhältnis von linkem Atrium zum Aortenbulbus (LA/Ao) ergibt sich bei den Patienten dieser Gruppe ein Mittelwert von 2,55, mit einem Minimum von 1,5 und einem Maximum von 3,12. Der Median lag bei 2,81 und die Standardabweichung betrug 0,75.



### 3.3.2 Deskriptive Auswertung

#### 3.3.2.1 Zusammenhang zwischen BNP und Alter

Der Zusammenhang zwischen dem BNP-Plasmaspiegel und dem Alter (metrische Größe) wird mittels eines Streudiagramms dargestellt. Dabei ist auf der x-Achse das Alter in Jahren aufgetragen, auf der y-Achse das BNP in pg/ml.

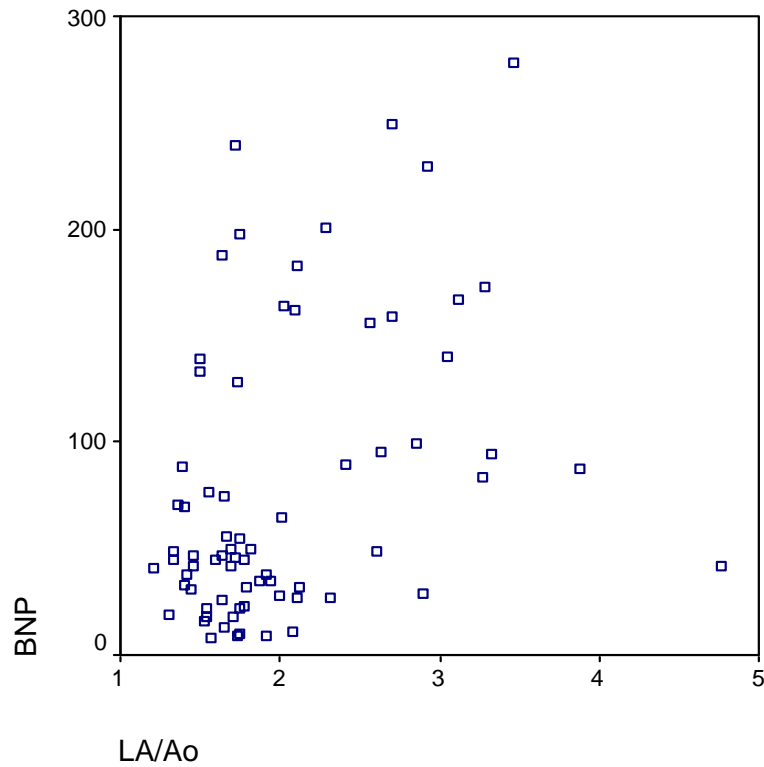


**Abbildung 10: Streudiagramm für das Verhältnis von BNP zum Alter**

Bereits anhand des Streudiagramms kann vermutet werden, dass zwischen BNP-Wert und Alter des Patienten keine Korrelation besteht. Diese Vermutung muss sich jedoch in der einfachen Regressionsanalyse bestätigen.

### 3.3.2.2 Zusammenhang zwischen BNP und LA/Ao

In Abbildung 11 ist der Zusammenhang zwischen BNP und dem Verhältnis von linkem Atrium zur Aorta (metrische Größe) graphisch – mittels Streudiagramm – dargestellt. Auf der x-Achse befindet sich der LA/Ao-Wert und auf der y-Achse ist BNP in pg/ml angegeben.

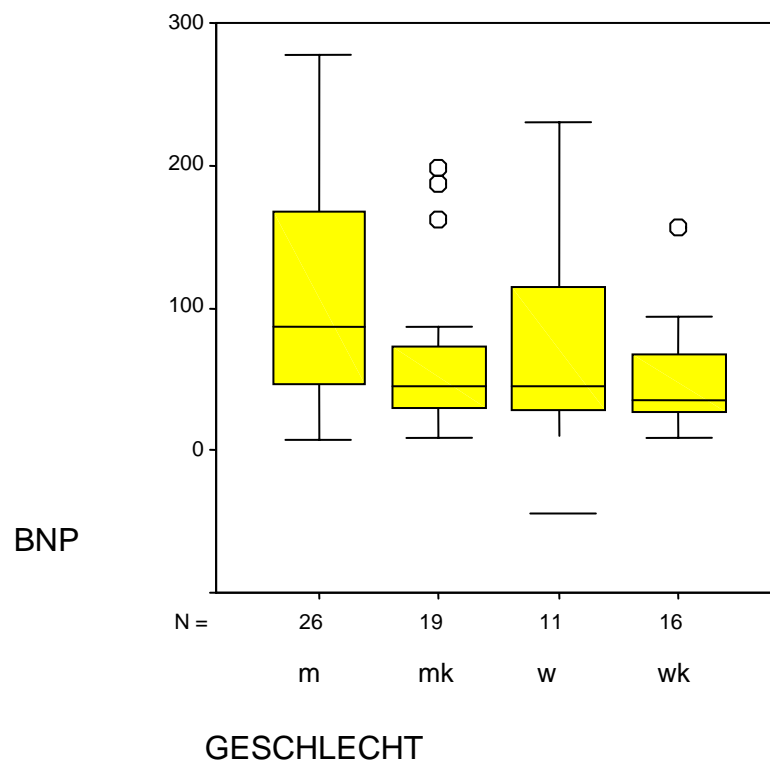


**Abbildung 11: Streudiagramm für das Verhältnis von BNP zu LA/Ao**

Anhand der Wolkenbildung im Streudiagramm, kann bereits vermutet werden, dass zwischen BNP und LA/Ao eine signifikante Korrelation bestehen könnte – dass der BNP-Wert also mit LA/Ao in positivem Zusammenhang steht (mit steigendem LA/Ao steigt auch das BNP). Dies muss sich jedoch in der einfachen Regressionsanalyse bestätigen.

### 3.3.2.3 Zusammenhang zwischen BNP und Geschlecht

In Abbildung 12 wird der Zusammenhang zwischen der BNP-Plasmakonzentration und dem Geschlecht der Patienten (kategoriale Größe) im Boxplot aufgezeigt. Auf der x-Achse sind die vier Gruppen für das Geschlecht mit der jeweiligen absoluten Anzahl ihrer Mitglieder angegeben. Auf der y-Achse befindet sich wiederum die Angabe für BNP in pg/ml. Die Graphik zeigt ferner für jede kategoriale Größe den Median – also das 50-Prozent-Percentil – sowie die 25- und 75-Prozent-Percentile. Extremwerte sind nicht zu sehen. Lediglich vier Werte befinden sich mehr als 1,5 Boxlängen außerhalb des 75-Prozent-Percentils (o; Ausreißer).



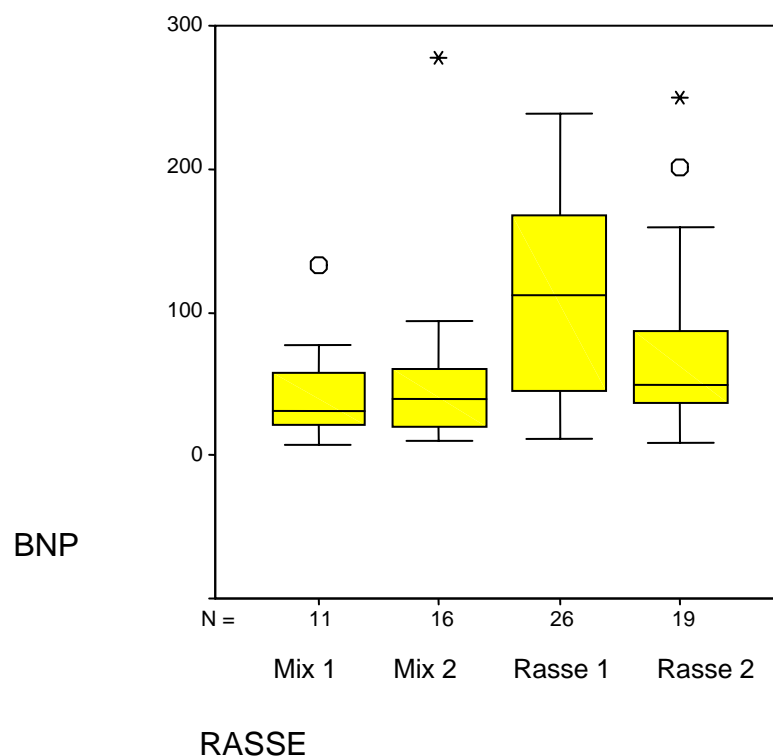
**Abbildung 12: Boxplot für das Verhältnis von BNP zum Geschlecht**

N = absolute Patientenzahl in der jeweiligen Gruppe, m = männlich, mk = männlich kastriert, w = weiblich, wk = ovariohysterektomiert

Anhand der Boxplotgrafik kann vermutet werden, dass zwischen dem Geschlecht der Patienten und dem BNP-Wert eine Korrelation besteht. Kastrierte/ovariohysterektomierte Tiere scheinen niedrigere Werte zu haben als unkastrierte Tiere.

### 3.3.2.4 Zusammenhang zwischen BNP und der Rasse

Abbildung 13 zeigt den Zusammenhang zwischen der BNP-Plasmakonzentration und der Rasse des Patienten (kategoriale Größe) mittels Boxplot auf. Auf der x-Achse sind die vier Gruppen für die Rasse mit der jeweiligen absoluten Anzahl ihrer Mitglieder angegeben. Auf der y-Achse befindet sich die Angabe für BNP in pg/ml. Die Graphik zeigt ferner für jede kategoriale Größe den Median – also das 50-Prozent-Percentil – sowie die 25- und 75-Prozent-Percentile. Es sind zwei Extremwerte (\*) zu sehen (Gruppe „Mix 2“ und Gruppe „Rasse 2“). Zwei Werte (Gruppe „Mix 1“ und Gruppe „Rasse 2“) befinden sich mehr als 1,5 Boxlängen außerhalb des 75-Prozent-Percentils (o; Ausreißer).



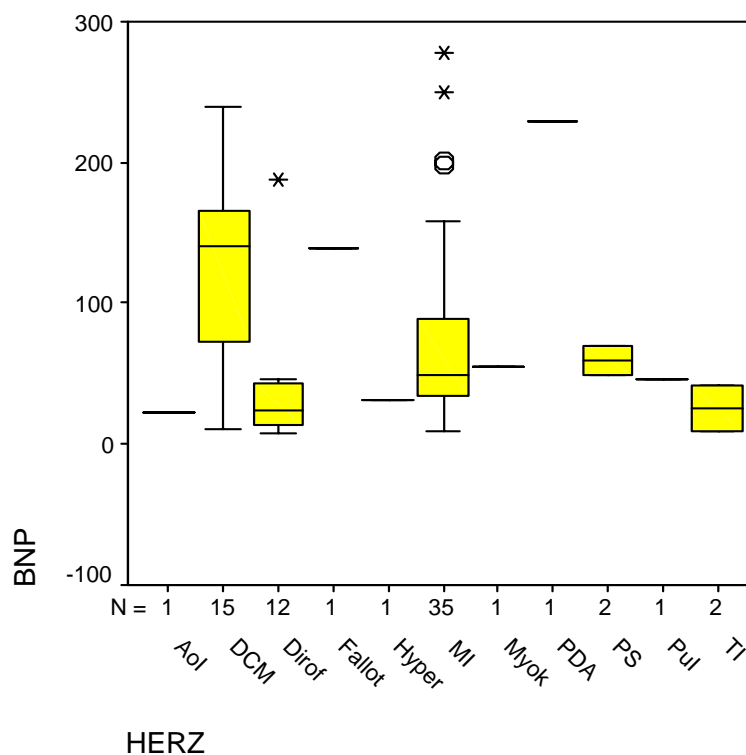
**Abbildung 13: Boxplot für das Verhältnis von BNP zur Rasse**

N = absolute Patientenzahl in der jeweiligen Gruppe, Mix 1 und Mix 2 = Mischlingshunde >20kg bzw. < 20 kg Körpergewicht, Rasse 1 und 2 = Rassehunde > 20 kg bzw. < 20 kg Körpergewicht

Eine Korrelation der Rasse mit dem BNP-Wert lässt sich aus der Boxplotgrafik nicht eindeutig für alle Gruppen ablesen. Auffallend sind jedoch die hohen BNP-Werte der Gruppe R1, bei der auch der Median deutlich über denen der andern Gruppen liegt. Eine statistisch aussagekräftige Interpretation kann jedoch nur mittels Varianzanalyse vorgenommen werden.

### 3.3.2.5 Zusammenhang zwischen BNP und der Art des Herzbefundes

Ein Zusammenhang zwischen BNP und dem diagnostizierten Herzbefund (kategoriale Größe) wird in Abbildung 14 mittels Boxplots für die jeweilige Patientengruppe dargestellt. Auf der x-Achse sind die verschiedenen Krankheiten (Herz) und ihre absolute Anzahl in der Patientengruppe aufgezeigt. Die y-Achse zeigt BNP in pg/ml. Die Graphik zeigt ferner für jede kategoriale Größe den Median – also das 50-Prozent-Percentil – sowie die 25- und 75-Prozent-Percentile. Es sind drei Extremwerte (\*) zu sehen (Gruppe „Dirof“ und Gruppe „MI“). Zwei Werte (Gruppe „MI“) befinden sich mehr als 1,5 Boxlängen außerhalb des 75-Prozent-Percentils (o; Ausreißer).



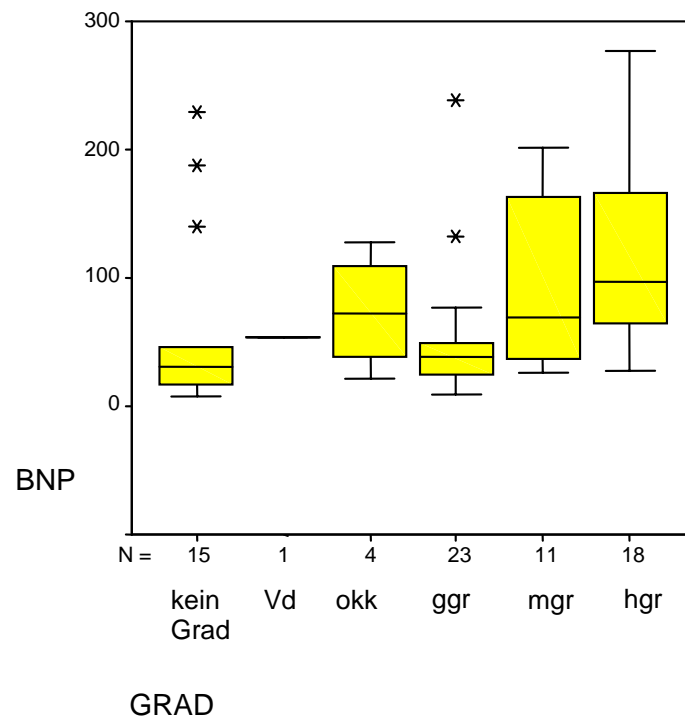
**Abbildung 14: Boxplot für das Verhältnis von BNP zur Art des Herzbefundes**

N = absolute Patientenzahl in der jeweiligen Gruppe, AoI = Aortenklappeninsuffizienz, DCM = dilatative Kardiomyopathie, Dirof = Dirofilariose, Fallot = Fallot Tetralogie, Hyper = Hypertonie, MI = Mitralklappeninsuffizienz, Myok = Myokarditis, PDA = Ductus botalli persistens, PS = Pulmonalstenose, Pul = Pulmonalklappeninsuffizienz, TI = Trikuspidalklappeninsuffizienz, Herz = Herzbefund

Die Graphik lässt eine Korrelation zwischen dem Herzbefund und dem BNP-Wert vermuten. Vor allem für die Gruppe DCM liegt der Median wesentlich höher als bei den meisten anderen Gruppen. Dieser Zusammenhang muss sich jedoch in der einfachen und multiplen Varianzanalyse bestätigen.

### 3.3.2.6 Zusammenhang zwischen BNP und dem Schweregrad der Herzkrankheiten

In Abbildung 15 wird der Zusammenhang zwischen BNP und dem Schweregrad der Herzkrankheit (kategoriale Größe) aufgezeigt. Auf der x-Achse sind die verschiedenen Schweregrade der Herzkrankheiten (Grad) dargestellt sowie die absolute Zahl der Patienten in der jeweiligen Gruppe. Die y-Achse zeigt BNP in pg/ml. In die Kategorie „kein Grad“ werden Herzkrankheiten eingeteilt, bei denen eine solche Einteilung nicht vorgenommen werden kann (wie beispielsweise Dirofilariose). Bei einem Patienten bestand nur der Verdacht auf Myokarditis und daher wurde diesem Patient der Grad „Verdacht“ zugeordnet. Die Graphik zeigt ferner für jede kategoriale Größe den Median – also das 50-Prozent-Percentil – sowie die 25- und 75-Prozent-Percentile. Es sind fünf Extremwerte (\*) zu sehen (Gruppe „kein Grad“ und Gruppe „ggr“).



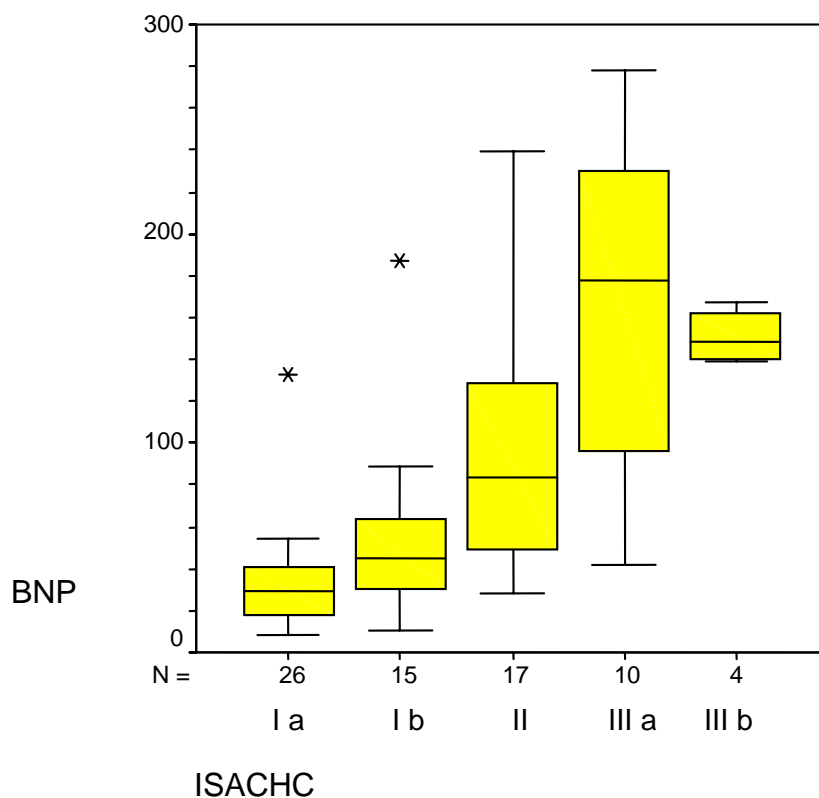
**Abbildung 15: Boxplots für das Verhältnis zwischen BNP und dem Schweregrad der Herzkrankheit**

N = absolute Patientenzahl in der jeweiligen Gruppe, Vd = Verdacht auf, occ = okkult, ggr = geringgradig, mgr = mittelgradig, hgr = hochgradig, Grad = Schweregrad der Herzkrankheit

Ein Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Krankheit und dem BNP-Wert ist anhand der Boxplotgrafik nicht eindeutig zu erkennen. Mittelgradige und hochgradige Befunde scheinen jedoch signifikant höhere BNP-Werte zu haben als die der anderen vier Gruppen.

### 3.3.2.7 Zusammenhang zwischen BNP und der ISACHC-Klassifizierung

In der folgenden Boxplotgrafik ist der Zusammenhang zwischen dem BNP-Plasmaspiegel der Patienten und der ISACHC-Klasse (kategoriale Größe) dargestellt. Auf der x-Achse sind die fünf ISACHC-Klassen mit der absoluten Anzahl ihrer Mitglieder aufgeführt. Auf der y-Achse befindet sich der BNP-Wert in pg/ml. Die Graphik zeigt für jede kategoriale Größe den Median – also das 50-Prozent-Percentil – sowie die 25- und 75-Prozent-Percentile. Es sind zwei Extremwerte (\*) zu sehen (Gruppe „Ia“ und Gruppe „Ib“).



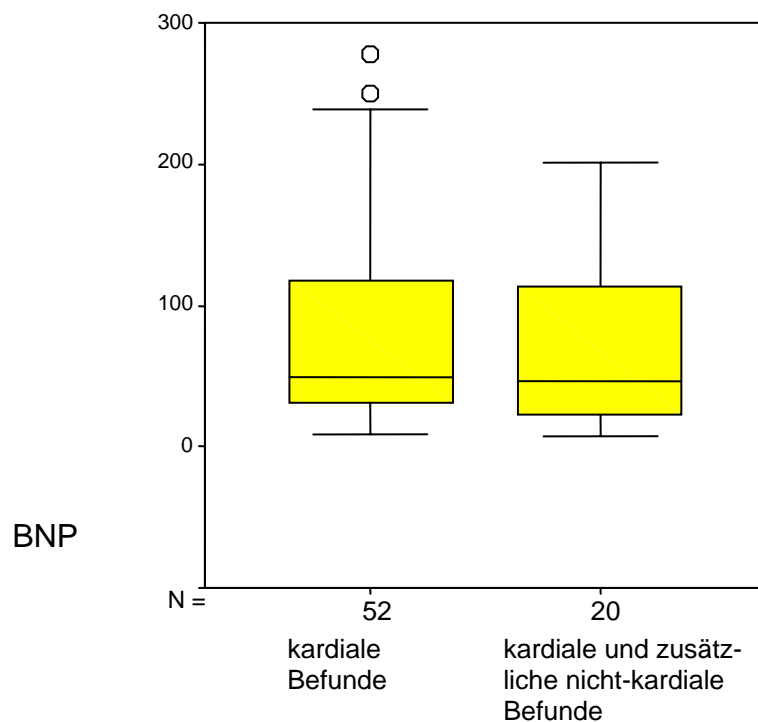
**Abbildung 16: Boxplots für den Zusammenhang zwischen BNP und den ISACHC-Klassen**

N = absolute Patientenzahl in der jeweiligen Gruppe, Ia = ISACHC Ia, Ib = ISACHC Ib, II = ISACHC II, IIIa = ISACHC IIIa, IIIb = ISACHC IIIb

Zwischen den Gruppen der ISACHC-Klassifizierung und den BNP-Werten scheint eine signifikante Korrelation zu bestehen. In der Boxplotgrafik zeigt sich deutlich, dass die BNP-Werte mit den ISACHC-Klassen ansteigen. Der Median steigt deutlich mit zunehmender Klasse an und bleibt nur bei ISACHC IIIb hinter dem Wert von ISACHC IIIa zurück.

### 3.3.2.8 BNP bei Patienten mit kardialen und nicht-kardialen Befunden

Um zu zeigen, ob weitere, nicht-kardiale Befunde einen Einfluss auf die BNP-Plasmakonzentration haben, wurden die BNP-Werte von Patienten, die nur kardiovaskuläre Krankheiten hatten (Gruppe: „kardiale Befunde“), mit den BNP-Werten von Patienten verglichen, die zusätzlich zur Herzkrankheit noch an weiteren, nicht-kardialen Krankheiten litten (Gruppe: „kardiale und zusätzlich nicht-kardiale Befunde“). Auf der x-Achse sind die beiden bereits genannten Gruppen mit der absoluten Anzahl ihrer Mitglieder aufgeführt, auf der y-Achse befindet sich die Angabe für BNP in pg/ml. Die Graphik zeigt für jede kategoriale Größe den Median – also das 50-Prozent-Percentil – sowie die 25- und 75-Prozent-Percentile. Lediglich zwei Werte (Gruppe „kardiale Befunde“) befinden sich mehr als 1,5 Boxlängen außerhalb des 75-Prozent-Percentils (o; Ausreißer).



**Abbildung 17: Boxplots für den Zusammenhang zwischen BNP bei Patienten mit kardialen und Patienten mit zusätzlichen nicht-kardialen Befunden.**

N = absolute Patientenzahl in der jeweiligen Gruppe

Zwischen den BNP-Werten von Patienten mit kardialen Krankheiten und den BNP-Werten von Patienten mit zusätzlichen, nicht-kardialen Krankheiten scheint kein signifikanter Unterschied zu bestehen, da die Mediane sowie die 25- und 75-Prozent-Percentile fast auf der gleichen Ebene liegen. Diese Theorie muss in der Varianzanalyse bestätigt werden.



### 3.3.3 Einfache Regressionsanalyse für metrische Variablen

#### 3.3.3.1 Zusammenhang zwischen BNP und Patientenalter

Für metrische Variablen wurde eine einfache Regressionsanalyse durchgeführt. Es besteht keine signifikante Korrelation zwischen dem BNP-Wert und dem Alter der Studienteilnehmer ( $p=0,433$ ).

	B	Std. Error	t	Sig.
Intercept	92,582	20,335	4,799	,000
Alter in Jahren	-1,766	2,240	-,788	<b>,433</b>

**Tabelle 15: Korrelation von Alter mit BNP**

#### 3.3.3.2 Zusammenhang zwischen BNP und LA/Ao

Für die Darstellung des Zusammenhangs zwischen BNP und LA/Ao wurde ebenfalls eine einfache Regressionsanalyse durchgeführt. Mittels Pearson-Korrelation lässt sich zeigen, dass zwischen BNP und LA/Ao eine signifikant positive Korrelation besteht (Pearson-Korrelation: 0,383).

		BNP	LA/Ao
BNP	Pearson Correlation	1	.383 **
	Sig. (2-tailed)	.	.001
	N	72	72
LA/Ao	Pearson Correlation	.383 **	1
	Sig. (2-tailed)	.001	.
	N	72	72

\*\* . Korrelation ist signifikant ab dem 0.01-Level

**Tabelle 16: Korrelation von LA/Ao mit BNP**

### 3.3.4 Einfaktorielle Varianzanalyse für kategoriale Variablen

#### 3.3.4.1 Zusammenhang zwischen BNP und Geschlecht

Tabelle 17 gibt Aufschluss über die Verteilung der Patienten in den verschiedenen Geschlechtsgruppen. Für jede Gruppe sind Mittelwert, Anzahl der Patienten in der jeweiligen Gruppe, die Standardabweichung und die Varianz aufgeführt.

Geschlecht	MW von BNP [pg/ml]	N	SD	Varianz
m	107,28	26	79,21	6273,73
mk	64,52	19	56,71	3216,11
w	75,41	11	71,12	5057,85
wk	49,39	16	38,16	1456,38
Total	78,26	72	67,77	4592,45

**Tabelle 17: Report Geschlecht**

MW = Mittelwert der BNP-Plasmakonzentration [pg/ml], N = absolute Patientenzahl in der Gruppe, SD = Standardabweichung, m = männlich, mk = männlich kastriert, w = weiblich, wk = weiblich ovariohysterektomiert

Das Geschlecht der Patienten (kategoriale Größe) hat auf die gemessene BNP-Plasmakonzentration einen signifikanten Einfluss ( $p = 0,034$ ). Dabei haben kastrierte Tiere wesentlich niedrigere BNP-Werte als unkastrierte Tiere, weibliche Hunde haben niedrigere BNP-Werte als männliche.

	F	Sig.
BNP * GESCHL Between Groups (Combined)	3,071	,034

**Tabelle 18: Anova-Tabelle Geschlecht**

F = Wert der F-Statistik, Sig. = Signifikanz

### 3.3.4.2 Zusammenhang zwischen BNP und der Rasse

In Tabelle 19 ist die Verteilung der Patienten auf die verschiedenen Rassegruppen dargestellt. Für jede Gruppe sind Mittelwert, Anzahl der Patienten in der jeweiligen Gruppe, die Standardabweichung und die Varianz aufgeführt.

Rasse	MW von BNP [pg/ml]	N	SD	Varianz
Mix 1	44,08	11	37,02	1370,66
Mix 2	55,25	16	64,43	4151,70
Rasse 1	110,99	26	70,95	5034,38
Rasse 2	72,62	19	64,31	4135,52
Total	78,26	72	67,77	4592,45

**Tabelle 19: Report Rasse**

MW = Mittelwert der BNP-Plasmakonzentration [pg/ml], N = absolute Patientenzahl in der Gruppe, SD = Standardabweichung, Mix 1 und 2 = Mischlingshunde >20kg bzw <20kg Körpergewicht, Rasse 1 und 2 = Rassehunde > 20 kg bzw. < 20 kg Körpergewicht

Zwischen der Rasse der Patienten (kategoriale Größe) und der gemessenen BNP-Plasmakonzentration zeigt sich in der einfaktoriellen Varianzanalyse ein signifikanter Zusammenhang ( $p= 0,01$ ). Die Mittelwerte der BNP-Plasmakonzentrationen sind bei Rassehunden höher als bei Mischlingstieren.

	F	Sig.
BNP * RASSE Between Groups (Combined)	4,084	,010

**Tabelle 20: Anova-Tabelle Rasse**

F = Wert der F-Statistik, Sig. = Signifikanz

### 3.3.4.3 Zusammenhang zwischen BNP und der Art des Herzbefundes

Tabelle 21 zeigt die Gruppen der verschiedenen Herzbefunde (kategoriale Variable) und die Verteilung der Patienten in den Gruppen. Für jede Gruppe sind Mittelwert, Anzahl der Patienten in der jeweiligen Gruppe, die Standardabweichung und die Varianz aufgeführt.

Herzbefund	MW von BNP [pg/ml]	N	SD	Varianz
Aorteninsuffizienz	21,86	1	.	.
DCM	120,895	15	67,85	4603,99
Dirofilariose	38,74	12	48,74	2375,57
Fallot	139,43	1	.	.
Hypertonie	31,63	1	.	.
Mitralinsuffizienz	76,12	35	66,098	4368,91
Myokarditis	54,32	1	.	.
PDA	229,81	1	.	.
Pulmonalstenose	59,23	2	15,01	225,14
Pulmonalinsuffizienz	46,44	1	.	.
Trikuspidalinsuffizienz	25,14	2	22,77	518,42
Total	78,26	72	67,77	4592,45

**Tabelle 21: Report Herzbefunde**

Aorteninsuffizienz = Aortenklappeninsuffizienz, DCM = dilatative Kardiomyopathie, Fallot = Fallot Tetralogie, Mitralinsuffizienz = Mitralklappeninsuffizienz, MW = Mittelwert der BNP-Plasmakonzentration [pg/ml], N = absolute Anzahl in der Gruppe, PDA = Ductus botalli persistens, Pulmonalinsuffizienz = Pulmonalklappeninsuffizienz, SD = Standardabweichung, Trikuspidalinsuffizienz = Trikuspidalklappeninsuffizienz

Mittels einfaktorieller Varianzanalyse lässt sich zeigen, dass zwischen der BNP-Plasmakonzentration und den verschiedenen diagnostizierten Herzkrankheiten – also der Art der Herzkrankheit der Patienten – ein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht ( $p=0,030$ ).

	F	Sig.
BNP * HERZ Between Groups (Combined)	2,192	,030

**Tabelle 22: Anova-Tabelle Herzbefund**

F = Wert der F-Statistik, Sig. = Signifikanz

### 3.3.4.4 Zusammenhang zwischen BNP und dem Schweregrad der Herzkrankheit

In Tabelle 23 ist die Verteilung der Patienten auf die Gruppen für die jeweiligen Schwere- oder Ausprägungsgrade der Herzbefunde (kategoriale Variable) aufgeführt. Zusätzlich werden für jede Gruppe jeweils der Mittelwert von BNP, die Anzahl der Patienten, die Standardabweichung und die Varianz angegeben. Studienteilnehmer mit Krankheiten, denen kein Schweregrad zugeordnet werden konnte, wurden in die Gruppe „kein Grad“ eingeordnet. Zu Gruppe „Verdacht auf“ wurden die Hunde zugeordnet, bei denen ein Verdacht auf eine Krankheit bestand. Gruppe „okkult“ umfasst die Tiere, bei denen sich die Krankheit in der okkulten Phase befand. In Gruppe „ggr.“ fallen Patienten mit geringgradiger, in Gruppe „mgr.“ Patienten mit mittelgradiger und in Gruppe „hgr.“ Patienten mit hochgradiger Ausprägung ihrer jeweiligen Herzkrankheit.

Schweregrad	MW von BNP [pg/ml]	N	SD	Varianz
kein Grad	57,71	15	69,399	4816,27
Verdacht auf	54,32	1	.	.
okkult	73,77	4	45,44	2064,82
ggr.	50,28	23	49,56	2456,44
mgr.	96,66	11	70,35	4949,65
hgr.	122,21	18	70,88	5024,11
Total	78,26	72	67,77	4592,45

**Tabelle 23: Report Schweregrad**

MW = Mittelwert der BNP-Plasmakonzentration [pg/ml], N = absolute Anzahl in der Gruppe, Schweregrad = Schweregrad der Erkrankung, SD = Standardabweichung, ggr. = geringgradig, mgr. = mittelgradig, hgr. = hochgradig

Setzt man den BNP-Wert mit dem Ausprägungsgrad des Herzbefundes in einer einfaktoriellen Varianzanalyse ins Verhältnis, so ergibt sich eine signifikante Korrelation ( $p=0,012$ ). Mit zunehmendem Grad steigt auch der BNP-Wert. Zwischen den Stufen gering- bis hochgradig und dem BNP- Wert besteht jeweils eine positive Korrelation.

			F	Sig.
BNP * GRAD	Between Groups	(Combined)	3,192	,012

**Tabelle 24: Anova-Tabelle Schweregrad**

F = Wert der F-Statistik, Sig. = Signifikanz

### 3.3.4.5 Zusammenhang zwischen BNP und der ISACHC-Klassifizierung

In der folgenden Tabelle (Tabelle 25) ist die Verteilung der Studienteilnehmer auf die verschiedenen ISACHC-Gruppen (kategoriale Variable) aufgeführt. Weiterhin gibt die Tabelle für jede Gruppe den BNP-Mittelwert, die Anzahl der Patienten in der jeweiligen Gruppe, die Standardabweichung und die Varianz des BNP-Wertes in jeder Gruppe an.

ISACHC	MW von BNP [pg/ml]	N	SD	Varianz
I a	32,57	26	24,83	616,34
I b	54,52	15	42,496	1805,93
II	98,35	17	61,07	3729,03
III a	169,48	10	75,52	5703,84
IIIb	150,78	4	13,29	176,75
Total	78,26	72	67,77	4592,45

**Tabelle 25: Report ISACHC-Klassen**

MW = Mittelwert der BNP-Plasmakonzentration [pg/ml], N = absolute Patientenzahl in der Gruppe, SD = Standardabweichung

Zwischen der BNP-Plasmakonzentration und den ISACHC-Klassen besteht ein sehr hoch signifikanter, positiver Zusammenhang ( $p < 0,001$ ).

	F	Sig.
BNP * ISACHC Between Groups (Combined)	19,129	,000

**Tabelle 26: Anova-Tabelle ISACHC-Klassen**

F = Wert der F-Statistik, Sig. = Signifikanz

### 3.3.4.6 BNP bei Patienten mit kardialen und zusätzlichen nicht-kardialen Befunden

Die Studienteilnehmer wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe wurde von den Patienten gebildet, bei denen ausschliesslich kardiale Krankheiten diagnostiziert wurden. Die andere Gruppe wurde von den Patienten gebildet, die zusätzlich zu ihrer Herzkrankheit noch weitere, nicht-kardiale Krankheiten haben. In Tabelle 27 sind die BNP-Mittelwerte für diese Gruppen, die Anzahl der Patienten in der jeweiligen Gruppe, die Standardabweichung und die Varianz angegeben.

	MW von BNP [pg/ml]	N	SD	Varianz
kardiale Krankheiten	81,01	52	70,69	4997,303
kardiale + zusätzliche nicht-kardiale Krankheiten	71,11	20	60,61	3673,06
Total	78,26	72	67,77	4592,45

**Tabelle 27: Einfluss nicht-kardialer Krankheiten**

MW = Mittelwert der BNP-Plasmakonzentration [pg/ml], N = absolute Patientenzahl in der Gruppe, SD = Standardabweichung

Mittels einfaktorieller Varianzanalyse konnte gezeigt werden, dass zwischen den BNP-Werten der verschiedenen Gruppen kein statistisch signifikanter Unterschied besteht ( $p=0,583$ ). Die zusätzlich zum Herzbefund festgestellten Krankheiten hatten bei der untersuchten Population somit keinen Einfluss auf die BNP-Plasmawerte.

	F	Sig.
BNP * Krankh. Between Groups (Combined)	,305	,583

**Tabelle 28: Anova-Tabelle kardiale und zusätzliche nicht-kardiale Krankheiten**

F = Wert der F-Statistik, Sig. = Signifikanz

### 3.3.5 Mehrfaktorielle Varianzanalyse

Alle kategorialen Variablen, die in der einfaktoriellen Varianzanalyse einen signifikanten Einfluss auf die BNP-Plasmakonzentration gezeigt haben, wurden einer mehrfaktoriellen Varianzanalyse unterzogen (Modell 1). Anschließend wurde eine Rückwärtsselektion durchgeführt, bei der die einzelnen kategorialen Variablen schrittweise eliminiert wurden. Zuerst wurden diejenigen Parameter ausgeschlossen, die im ersten Modell keinen signifikanten Einfluss auf die BNP-Plasmakonzentration gezeigt haben. Anschließend diejenigen Variablen, die die geringste Signifikanz zeigten. Als abhängige Variable (dependent variable) wurde immer die ermittelte BNP-Plasmakonzentration zugrunde gelegt.

#### 3.3.5.1 Modell mit allen kategorialen Variablen (Modell 1)

Zunächst wurden alle kategorialen Variablen mit in das Modell einbezogen, die einzeln signifikant mit dem BNP-Wert korrelieren (Geschlecht, Rasse, Art und Schweregrad der Herzkrankheit und die ISACHC-Klassen). Tabelle 29 zeigt die Signifikanzen dieser kategorialen Variablen nach einer mehrfaktoriellen Varianzanalyse (Modell 1).

Abhängige Variable : BNP

	F	Sig
Corrected Model	4,156	,000
Intercept	18,509	,00
Geschlecht	2,494	,071
Rasse	0,424	,737
Herbefund	0,471	,870
Schweregrad	1,912	,140
ISACHC	5,633	,001

R Squared = ,666 (Adjusted R Squared = , 506)

#### Tabelle 29: Modell 1, Signifikanzen

F = Wert der F-Statistik, Schweregrad = Schweregrad der Herzkrankheit, Sig. = Signifikanz, R Squared = Bestimmtheitsmaß, Adjusted R Squared = adjustiertes Bestimmtheitsmaß

Nach der Rückwärtsselektion ergibt sich nur für ISACHC ein signifikanter Einfluss auf die BNP-Plasmakonzentration ( $p < 0,001$ ). Alle anderen Variablen, die in der einfaktoriellen Varianzanalyse einzeln einen Zusammenhang mit der BNP-Konzentration gezeigt haben, verlieren in der mehrfaktoriellen Varianzanalyse diesen Zusammenhang. Ursache dafür ist, dass die



genannten Variablen mit den ISACHC-Klassen in Abhängigkeit stehen. Das heißt, dass die Variablen aufeinander Einfluss nehmen und somit eine Wechselwirkung zwischen den Gruppen besteht. Das Bestimmtheitsmaß – also der Anteil der durch die Regression erklärten Varianz an der Gesamtvarianz von BNP – war in diesem Modell 66,6 Prozent. Das adjustierte Bestimmtheitsmaß – es berücksichtigt auch die Anzahl der Einfluss nehmenden Größen – betrug 50,6 Prozent.

### 3.3.5.2 Modell nur mit ISACHC (Modell 2)

In der mehrfaktoriellen Varianzanalyse hat sich gezeigt, dass die ISACHC-Gruppen sehr hoch signifikant mit der BNP-Konzentration korrelieren ( $p < 0,001$ ). In Modell 2 (Modell nur mit ISACHC) kann dies bestätigt werden. In diesem Modell beträgt das Bestimmtheitsmaß 53,3 Prozent, das adjustierte Bestimmtheitsmaß liegt bei 50,5 Prozent.

Abhängige Variable : BNP

	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	173843,203	4	43460,801	19,129	,000
Intercept	497591,81	1	497591,806	219,015	,000
ISACHC	173843,203	4	43460,801	19,129	,000
Error	152220,762	67	2271,952		
Total	767018,370	72			
Corrected Total	326063,965	71			

R Squared = ,533 (Adjusted R Squared = ,505)

### Tabelle 30: Variabilität zwischen den ISACHC-Gruppen

F = Wert der F-Statistik, Sig. = Signifikanz, df = Freiheitsgrad, R Squared = Bestimmtheitsmaß, Adjusted R Squared = adjustiertes Bestimmtheitsmaß

Zwischen den einzelnen ISACHC-Klassen besteht nur teilweise ein signifikanter Unterschied. Kein signifikanter Unterschied besteht zwischen den Gruppen Ia und Ib sowie den Gruppen IIIa und IIIb. Ein signifikanter Unterschied besteht zwischen den Gruppen Ia und II, IIIa und IIIb, zwischen Ib und II, IIIa und IIIb sowie zwischen II und IIIa und IIIb. Tabelle 31 veranschaulicht dies anhand der Parameterschätzung, bei der die ISACHC-Klasse IIIb als Referenzkategorie eingesetzt wurde. Im Vergleich zu dieser Referenzkategorie bestehen folgende Niveauunterschiede:

Abhängige Variable : BNP

	B	Std. Error	t	Sig
Corrected Model	150,78	23,83	6,33	,000
[ISACHC=Ia]	-118,21	25,60	-4,62	,000
[ISACHC=Ib]	-96,26	26,82	-3,59	,001
[ISACHC=II]	-52,42	26,49	-1,98	,052
[ISACHC=IIIa]	18,71	28,20	0,663	,509
[ISACHC=IIIb]	0 a	.	.	.

a: Parameter ist = 0, da er die Referenzkategorie bildet

**Tabelle 31: Parameterschätzung**

### 3.3.5.3 Modell mit Herzkrankheit und Schweregrad ohne ISACHC (Modell 3)

Durch die mehrfaktorielle Varianzanalyse kann gezeigt werden, dass alle Variablen, die in der einfaktoriellen Varianzanalyse mit BNP in einem signifikanten Zusammenhang stehen, diese Korrelation durch die Wechselwirkung mit den ISACHC-Klassen verlieren. Durch dieses Ergebnis wird die Korrelation der Variablen untereinander deutlich aufgezeigt. In Modell 3 wurde nun eine Rückwärtsselektion durchgeführt, bei der die ISACHC-Gruppen unberücksichtigt blieben. Unter diesem Umstand zeigt sich nun auch für die Variablen „Art des Herzbefundes“ und „Schweregrad der Herzkrankheit“ eine signifikante Korrelation mit dem BNP-Wert.

abhängige Variable : BNP

	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Corrected Model	129786,82	13	9983,60	2,95	,002
Intercept	71357,45	1	71357,45	21,09	,000
Herzbefund	66293,25	8	8286,66	2,45	,023
Schweregrad	43596,53	3	14532,18	4,29	,008
Error	186277,14	58	3384,09		
Total	767018,37	72			
Corrected Total	326063,97	71			

R Squared = ,398 (Adjusted R Squared = , 263)

**Tabelle 32: Variabilität zwischen Art und Schweregrad der Herzkrankheit**

F = Wert der F-Statistik, Sig. = Signifikanz, df = Freiheitsgrad, Herz = Arten des Herzbefundes, Grad = Schweregrad der Herzkrankheit, R Squared = Bestimmtheitsmaß, Adjusted R Squared = adjustiertes Bestimmtheitsmaß

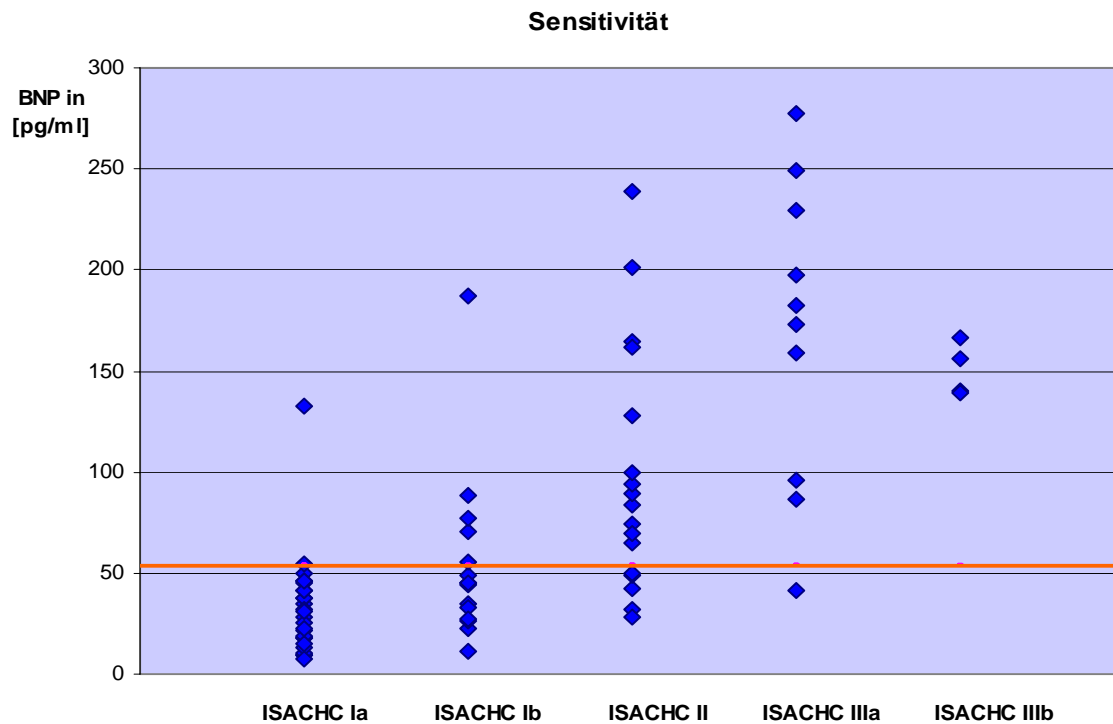
Bezieht man ISACHC als Variable nicht in die multifaktorielle Varianzanalyse mit ein, so korrelieren sowohl der Herzbefund als auch der Schweregrad der Herzkrankheit signifikant mit der BNP-Plasmakonzentration. Das adjustierte Bestimmtheitsmaß ist jedoch in diesem Modell (Modell 3) mit 26,3 Prozent wesentlich niedriger als das adjustierte Bestimmtheitsmaß in Modell 2 (50,5 Prozent). Modell 2 – also der Bezug vom BNP-Wert zur ISACHC-Klassifizierung – eignet sich daher besser zur Beschreibung der klinischen Verhältnisse als Modell 3, in dem die Abhängigkeit des BNP-Wertes von der Art des Herzbefundes und dem Schweregrad der Herzkrankheit modelliert wird.

### **3.3.6 Sensitivität**

In einer vergleichbaren Studie von Tietgen (2004) wurde für die BNP-Plasmakonzentration bei gesunden Hunden ein Referenzwert von 53,69 pg/ml ermittelt. Der Mittelwert der BNP-Plasmakonzentration der gesunden Hunde lag bei 23,83 pg/ml mit einem Minimum von 3,39 pg/ml, einem Maximum von 79,31 pg/ml und einer Standardabweichung von 14,91 pg/ml (145).

In der vorliegenden Studie lagen 40 herzkrankte Tiere unter dem von Tietgen (2004) ermittelten Referenzwert für gesunde Hunde von 53,69 pg/ml. Dies entspricht 55,55 Prozent der untersuchten Hunde. Die Tiere waren den verschiedenen ISACHC-Klassen wie folgt zugeordnet: Klasse ISACHC Ia: 33,33 Prozent (24 von 72 Tieren); Klasse ISACHC Ib: 13,88 Prozent (zehn von 72 Tieren); Klasse ISACHC II: 6,94 Prozent (fünf von 72 Tieren) und Klasse IIIa: 1,93 Prozent (ein Tier von 72 Tieren). Kein Tier der Klasse ISACHC Ib hatte eine BNP-Plasmakonzentration unterhalb des Referenzwertes.

Abbildung 18 zeigt alle BNP-Plasmakonzentrationen der verschiedenen ISACHC-Klassen. Zusätzlich wird der Cut-Off-Wert von 53,69 pg/ml als Linie dargestellt. Anhand dieser Grafik ist gut erkennbar, wie sich die Sensitivität des Testsystems durch Verschiebung des Cut-Off-Wertes beeinflussen lässt.



**Abbildung 18: BNP-Plasmakonzentration der verschiedenen ISACHC-Klassen**

Für die Berechnung der Sensitivität des verwendeten Testsystems definiert sich ein positives Testergebnis als BNP-Plasmakonzentration oberhalb des Cut-Off-Wertes von 53,69 pg/ml. Es ergeben sich für die verschiedenen ISACHC-Klassen unterschiedliche Sensitivitäten:

	Anzahl der Hunde mit BNP-Wert > 53,69 [pg/ml]	Anzahl der Hunde mit BNP-Wert < 53,69 [pg/ml]	Sensitivität
ISACHC Ia	2	24	<b>7,69%</b>
ISACHC Ib	5	10	<b>33,33%</b>
ISACHC II	12	5	<b>70,59%</b>
ISACHC IIIa	9	1	<b>90%</b>
ISACHC IIIb	4	-	<b>100%</b>

**Tabelle 33: Sensitivität des Testsystems in den verschiedenen ISACHC-Klassen**

Für klinisch symptomatische Patienten (ISACHC II – IIIb) ergibt sich eine hinreichende Sensitivität von 80,65 Prozent und für Patienten im fortgeschrittenen Herzversagen (ISACHC IIIa und IIIb) eine gute Sensitivität von 92,86 Prozent.

## **4 Diskussion**

### **4.1 Versuchsdurchführung**

#### **4.1.1 Patientengut**

Im Vergleich zu bislang publizierten Studien hat sich die vorliegende Arbeit mit einem sehr heterogenen Patientengut befasst. So wurden allein 35 verschiedene Rassen in die Studie aufgenommen. In vergleichbaren Studien, die ebenfalls den Zusammenhang zwischen BNP-Plasmaspiegeln und kongestiven Herzinsuffizienzen bei Hunden untersucht hatten, waren die Patientengruppen wesentlich homogener bezüglich der Rasse oder der zugrunde liegenden Krankheit. So untersuchten Asano et al. (1999) beispielsweise eine Population von Hunden mit experimentell ausgelöster Mitralklappenregurgitation (128). Unter diesen standardisierten Bedingungen bleibt die Homogenität der Population gesichert. Eine andere Studie von Eriksson et al. (2001) beschäftigte sich nur mit der BNP-Plasmakonzentration bei Cavalier King Charles Spaniels (147).

Ein heterogenes Patientengut entspricht allerdings mehr den tatsächlichen Verhältnissen der Gesamtpopulation. Daher wurden für die vorliegende Studie Patienten unabhängig von Allgemeinzustand, Rasse, Geschlecht, Alter und ihrer Herzkrankheit ausgewählt. Selbstverständlich limitiert ein heterogenes Patientengut wiederum die Studie in manchen Kriterien maßgeblich. Auf diese Einschränkungen wird in der Diskussion der Ergebnisse eingegangen.

#### **4.1.2 RIA**

Der verwendete Radioimmunoassay stellt zum gegenwärtigen Zeitpunkt das einzig verfügbare Testsystem für kanines BNP dar. Er zeichnet sich aus durch sehr hohe Sensitivität (vom Hersteller mit  $(IC_{20}; 50; 80) = 55,75; 10,43$  bzw.  $1,88$  pg/tube angegeben) und Spezifität (Kreuzreaktivität mit kaninem BNP ist 100%). Eine Validierung des Testsystems wurde 2004 von Tietgen durchgeführt (145).

#### **4.1.3 Sonographische Untersuchung**

Bislang gilt die sonographische Untersuchung als beste diagnostische Maßnahme für das Erkennen einer kardialen Dysfunktion sowie zur Einteilung kardiovaskulärer Krankheiten in verschiedene Schweregrade. Sie wurde daher zur Kategorisierung aller Patienten verwendet. Die Diagnose der Krankheit und die Feststellung des Schweregrades wurden mittels Ultraschall gestellt. Die sonographische Untersuchung erfolgte bei allen Tieren durch einen erfahrenen Untersucher, nach standardisierten Methoden, mit demselben Gerät und in der gleichen

Reihenfolge der Untersuchungsschritte. Die anschließende Einteilung der Patienten in die ISACHC-Klassen erfolgte nach den Ergebnissen der sonographischen Untersuchung, unter Berücksichtigung der klinischen Untersuchung und gegebenenfalls der Röntgenuntersuchung.

## **4.2 Ergebnisse**

### **4.2.1 Regressions- und Varianzanalyse**

#### **4.2.1.1 Zusammenhang zwischen BNP und Patientenalter**

In der einfachen Regressionsanalyse konnte gezeigt werden, dass zwischen dem Alter des Patienten und dem BNP-Plasmaspiegel keine signifikante Korrelation besteht. Diese Ergebnisse gehen einher mit den Ergebnissen anderer Autoren. Weder konnten Eriksson et al. (2001) bei einer Studie mit 17 Hunden eine Korrelation zwischen BNP und Patientenalter feststellen (147) noch gelang dies MacDonald et al. zwei Jahre später in einer Studie mit 34 Hunden (148). Im Gegensatz dazu ist beim gesunden Menschen nachgewiesen, dass die BNP-Konzentration mit zunehmendem Alter signifikant ansteigt (149).

Die unterschiedlichen Grundkrankheiten – und auch die unterschiedlichen Grade ihrer Ausprägung – sind in der Population der vorliegenden Studie sehr heterogen verteilt. BNP gilt als Marker für zunehmende linksventrikuläre Dysfunktion und steigt mit dem Schweregrad der Kongestion an (150). Demnach ist beispielsweise bei denjenigen Tieren ein besonders hoher BNP-Wert zu erwarten, die an massiven Kongestionen leiden. In der untersuchten Population kommt dies sowohl bei älteren Tieren (hauptsächlich durch Mitralinsuffizienz) als auch bei sehr jungen Tieren vor (kongenitale Missbildungen). Durch diese Zusammenhänge ist es anhand der vorliegenden Studie nur sehr schwer zu beurteilen, ob eine signifikante Korrelation zwischen Alter und BNP-Wert besteht. Um eine definitive Aussage treffen zu können, müssen weitere Untersuchungen mit einer wesentlich homogeneren Patientenpopulation folgen, vergleichbar mit den Untersuchungen bei gesunden Tieren.

#### **4.2.1.2 Zusammenhang zwischen BNP und anatomischem LA/Ao-Verhältnis**

Zwischen dem BNP-Plasmaspiegel und dem Verhältnis von linkem Atrium zur Aorta zeigt sich in der einfachen Regressionsanalyse eine signifikante und positive Korrelation. Das Verhältnis von linkem Atrium zur Aorta (LA/Ao) vergrößert sich mit zunehmenden atrialen und ventrikulären Stauungserscheinungen. Eine linksatriale Vergrößerung wird als Parameter für Stauungserscheinungen des linken Herzens anerkannt (144, 146, 151). Der Schweregrad der ventrikulären Volumenüberlastung korreliert beim Hund mit der Höhe der BNP-

Plasmakonzentration (52). Mac Donald et al. (2003) haben ebenfalls in der einfachen Regressionsanalyse eine signifikante Korrelation zwischen dem Verhältnis von LA/Ao und dem BNP-Plasmaspiegel gefunden ( $p=0,04$ ) (148). Ob dieser Zusammenhang eine klinische Relevanz hat, muss sich in weiteren Studien zeigen.

#### **4.2.1.3 Zusammenhang zwischen BNP und Patientengeschlecht**

Waku et al. (2001) konnten in einer Studie mit gesunden Menschen zeigen, dass der BNP-Plasmaspiegel bei gesunden Frauen höher ist als bei gesunden Männern (149). Auch in der vorliegenden Studie konnte in der einfachen Varianzanalyse zunächst eine signifikante Korrelation zwischen dem Geschlecht des Patienten und dem BNP-Plasmaspiegel gezeigt werden ( $p=0,034$ ). Dabei hatten weibliche Tiere niedrigere BNP-Werte als männliche und kastrierte Hunde hatten niedrigere BNP-Plasmakonzentrationen als unkastrierte Tiere desselben Geschlechts. Ein signifikanter Unterschied zwischen den BNP-Plasmakonzentrationen von gesunden kastrierten und unkastrierten Tieren konnte von Tietgen (2004) nicht nachgewiesen werden (145).

Untersucht man den Zusammenhang von der BNP-Plasmakonzentration und dem Geschlecht mit Hilfe einer mehrfaktoriellen Varianzanalyse – in der weitere Parameter mit einbezogen werden – so kann keine signifikante Korrelation mehr aufgezeigt werden. Möglicherweise stellte daher die zunächst festgestellte Korrelation zwischen Geschlecht und BNP-Plasmakonzentration nur eine zufällige Verteilung dar. Weiterhin konnte bisher keine Studie belegen, dass sich Ergebnisse aus der Humanmedizin auf das Tiermodell übertragen lassen. Außerdem wurden in der angeführten Studie von Waku et al. (2001) nur gesunde Menschen untersucht. Zum anderen kommen in der Hunde-Population der vorliegenden Studie auch kastrierte Tiere vor.

#### **4.2.1.4 Zusammenhang zwischen BNP und Rasse**

Zwischen der Rasse und dem BNP-Plasmaspiegel zeigt sich in der einfachen Varianzanalyse eine signifikante Korrelation ( $p=0,01$ ). Die Studienteilnehmer wurden für die statistische Auswertung in vier Klassen eingeteilt. Zunächst erfolgte eine Einteilung in Mischlings- und Rassehunde, wobei beide Gruppen nochmals anhand ihres Gewichtes unterteilt wurden. Die Fragestellung ist nun, ob das – mittels einfacher Varianzanalyse gewonnene – Ergebnis für die tatsächlichen Verhältnisse repräsentativ ist. Es könnte nämlich durch die Art der Einteilung auch eher ein Verhältnis von BNP-Wert zu Gewicht darstellen.

In den einzelnen Gruppen der Rasseneinteilung sind die jeweiligen Rassen zudem häufig nur einzeln vertreten. Besonders hohe BNP-Werte kommen vor allem in der Gruppe R1 vor (Rassehunde mit einem Körpergewicht von mehr als 20 kg). Die meisten Tiere dieser Gruppe wurden bereits mit deutlichen Stauungserscheinungen oder mit Herzversagen vorgestellt, was den hohen BNP-Durchschnittswert dieser Gruppe erklären kann. Eine Korrelation zwischen den einzelnen Parametern (Rasse, Gewicht, Art- und Schweregrad der Herzkrankheit) ist daher durch die Art der in dieser Studie vorgenommenen Einteilung der Patientengruppen sehr wahrscheinlich. Diese Korrelation der einzelnen Parameter wird durch den folgenden Umstand deutlich: In der multifaktoriellen Varianzanalyse, die entsprechende Korrelationen zwischen den Parametern berücksichtigt, zeigt sich keine signifikante Korrelation zwischen Rasse und BNP-Wert mehr. Das Ergebnis der multifaktoriellen Varianzanalyse entspricht daher eher den tatsächlichen Verhältnissen. Um den wahren Zusammenhang zwischen dem BNP-Wert und verschiedenen Hunderassen zu klären, erfordert es weitere Studien mit einer wesentlich höheren Patientenzahl je Rasse.

#### **4.2.1.5 Zusammenhang zwischen BNP und der Art des Herzbefundes**

Auch zwischen dem Parameter für die Art des Herzbefundes und andern Parametern – wie Schweregrad, ISACHC-Klassifizierung und Rasse – bestehen naturgemäß Zusammenhänge. Die Parameter interagieren miteinander. Sehr häufig besteht beispielsweise ein Zusammenhang zwischen der Art des Herzbefundes und der Rasse. Bei Dobermännern (R1) kommen dilatative Kardiomyopathien wesentlich häufiger vor als Mitralklappeninsuffizienzen. Diese sind dagegen bei kleinen Tieren wie Rauhaardackeln (R2) häufiger vertreten.

Außerdem gibt es bei den meisten Herzkrankheiten verschiedene Stufen des Schweregrades. Bei keinem der Studienpatienten, bei dem eine Dirofilariose diagnostiziert wurde, traten deutliche Stauungs- und Dekompensationsanzeichen auf. Wäre dies der Fall gewesen, so hätte dieser Umstand möglicherweise den Mittelwert und den Median der BNP-Plasmakonzentration in dieser Gruppe nach oben verschoben. Schon allein unter diesen Umständen sind die mittels Varianzanalyse gewonnenen Daten – unter dem Aspekt der Auswahl des Patientenguts – besonders kritisch zu betrachten. Anzumerken ist ebenso, dass die Patientenzahlen in den einzelnen Gruppen sehr stark variieren (ein Patient bis 35 Patienten pro Gruppe). Die Gruppen sind demnach sowohl in sich als auch untereinander sehr heterogen.



In der vorliegenden Studie lässt sich zunächst eine signifikante Korrelation zwischen der Art des Herzbefundes und dem gemessenen BNP-Plasmaspiegel zeigen. Betrachtet man diese beiden Parameter jedoch in einer multifaktoriellen Varianzanalyse, die zusätzlich andere Parameter mit einbezieht, so lässt sich keine signifikante Korrelation mehr zeigen. Möglicherweise aber ließe sich auch in einer multifaktoriellen Varianzanalyse eine signifikante Korrelation zeigen, würde man in einer Studie vergleichbare und homogene Gruppen untersuchen.

Asano et al. (1999) haben zwar bereits fünf Hunde mit dekompensiertem Herzversagen untersucht. Allerdings muss darauf hingewiesen werden, dass statistisch und klinisch relevante Ergebnisse aufgrund der kleinen Fallzahl (fünf Tiere) nicht folgen müssen. In dieser Studie wurde bei zwei Tieren eine dilatative Kardiomyopathie diagnostiziert, bei den anderen drei Hunden eine chronische Mitralklappenendokardiose (128). Im Gegensatz zu ANP konnte im BNP-Plasmaspiegel dieser beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied aufgezeigt werden. Diese Ergebnisse entsprechen den Resultaten der vorliegenden Studie.

#### **4.2.1.6 Zusammenhang zwischen BNP und dem Schweregrad der Herzkrankheit**

In der vorliegenden Studie wurde die Ausprägung jeder Krankheit in die Kategorien „geringgradig“, „mittelgradig“ oder „hochgradig“ eingeordnet. Krankheiten, bei denen diese Einteilung in Bezug auf kardiale Veränderungen nicht üblich ist (beispielsweise Dirofilariose), wurden in die Klasse „kein Grad“ eingestuft. Weiterhin wurden die Patienten mit einer okkulten dilatativen Kardiomyopathie der Gruppe „okkult“ zugeteilt. Mittels Varianzanalyse sollte gezeigt werden, ob zwischen der BNP-Plasmakonzentration und dem Schweregrad einer Herzkrankheit ein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht. Der Unterschied zwischen der Einteilung nach dem Schweregrad und der Zuordnung zu den ISACHC-Klassen besteht in Folgendem: Bei der Einteilung der Patienten nach dem Schweregrad der Krankheit handelt es sich um eine funktionelle und morphologische Einteilung der Herzkrankheit. Die Einteilung der Patienten in die ISACHC-Klassen hingegen basiert auf klinischer Symptomatik und verwendet zur genaueren Unterteilung als Hilfsmittel die sonographische und gegebenenfalls röntgenologische Untersuchungen.

Zunächst zeigte sich für die verschiedenen Schweregrade in der einfachen Varianzanalyse eine signifikante Korrelation mit dem BNP-Plasmaspiegel. In der Boxplotgraphik lässt sich dies vor allem für die Stufen gering- bis hochgradig nachvollziehen. Da dieser Zusammenhang jedoch in der multiplen Varianzanalyse – in der die ISACHC-Klassen einbezogen wur-

den – verloren ging, wurde auf eine weitere Untersuchung bezüglich der signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen verzichtet. Die Beurteilung des Schweregrades einer Herzkrankheit ist – nach der in dieser Studie vorgenommenen Einteilung – mittels BNP-Plasmaspiegel daher nicht aussagekräftig.

Wird die ISACHC-Klassifizierung als Parameter der multiplen Varianzanalyse vorenthalten, weisen sowohl Schweregrad als auch Art der Herzkrankheit einen Zusammenhang mit dem BNP-Wert auf (Modell 3). Die ISACHC-Klassen werden nämlich anhand des klinischen Erscheinungsbildes zugeordnet; der Schweregrad der Krankheit bedingt wiederum das klinische Erscheinungsbild und daher die Zuordnung zur ISACHC-Klasse. Die Interaktion zwischen beiden Parametern ist offensichtlich. Außerdem interagiert auch die Art des Herzbefundes – also die Herzkrankheit selbst – direkt und indirekt mit dem Schweregrad der Herzkrankheit.

Sämtliche Wechselwirkungen gehen in die multiple Varianzanalyse mit ein, wodurch der Schweregrad und die Art der Krankheit unter der Dominanz der ISACHC-Klassen ihre signifikante Korrelation mit dem BNP-Wert verlieren.

In der multiplen Varianzanalyse – ohne die Berücksichtigung der ISACHC-Klassen – zeigt sich also auch für die BNP-Plasmakonzentration eine signifikante Korrelation mit dem Schweregrad und der Art der Krankheit. Das Bestimmtheitsmaß in diesem Modell (Modell 3) ist jedoch wesentlich kleiner als in Modell 2 (Modell nur mit ISACHC). Die tatsächliche Relevanz von Modell 3 bleibt daher in Frage gestellt.

#### **4.2.1.7 Zusammenhang zwischen BNP und ISACHC-Klassifizierung**

Sowohl in der Human- als auch in der Tiermedizin kann der Schweregrad des kardiovaskulären Befundes eines Patienten mittels geeigneter Klassifizierung eingeschätzt werden, die sich am klinischen Erscheinungsbild des Patienten orientiert. Die Klassifizierung der New York Heart Association wird vor allem in der Humanmedizin zur Einstufung von Patienten mit kardiovaskulären Krankheiten verwendet. Sie ist in etwa vergleichbar mit der ISACHC-Klassifizierung der Tiermedizin, da sie Patienten ebenfalls anhand ihres klinischen Status einteilt. Auch in der Tiermedizin werden Patienten in manchen Studien anhand der NYHA-Klassifizierung eingeteilt. Für die vorliegende Studie wurde jedoch die ISACHC-Klassifizierung zur Einteilung der Hunde gewählt, da sie für die Verhältnisse in der Tiermedizin besser angepasst ist. In der Humanmedizin hat sich – unabhängig von der zugrunde lie-

genden Krankheit – eine Korrelation zwischen dem BNP-Plasmaspiegel und der NYHA-Klasse gezeigt (110, 118, 152). Der BNP-Spiegel erhöht sich mit zunehmender klinischer Symptomatik (116).

Auch in der Tiermedizin liegen erste Studien vor, bei denen ein möglicher Zusammenhang zwischen der NYHA-Klasse und dem BNP-Wert beobachtet wurde. So konnten Asano et al. (1999) bereits einen Zusammenhang zwischen den beiden Parametern feststellen (128). In einer weiteren, erst kürzlich durchgeführten Studie von MacDonald et al. (2003) konnten ähnliche Ergebnisse gewonnen werden, wobei hier auf die Einteilung der Patienten in die NYHA-Klassifizierung verzichtet wurde (148). Die von MacDonald durchgeführte Studie verwendete eine andere Art der Einteilung von Herzkrankheiten, die sich an den Symptomen und dem klinischen Erscheinungsbild orientierte. Auch hier korrelierte BNP signifikant und positiv mit der zunehmenden klinischen Verschlechterung.

In der vorliegenden Studie mit einem erstmals umfangreichen Patientengut wurde nun erstmals BNP mit den ISACHC-Klassen ins Verhältnis gesetzt. Die sehr hoch signifikante Korrelation, die sich bereits in der einfachen Varianzanalyse deutlich zeigte, konnte als einzige auch in der mehrfaktoriellen Varianzanalyse bestätigt werden. Die ISACHC-Klassen sind somit in der vorliegenden Studie der einzige Parameter, der unter Berücksichtigung aller Einfluss nehmenden Faktoren (mehrfaktorielle Varianzanalyse) eine hoch signifikante Korrelation mit dem BNP-Plasmaspiegel zeigt.

Die Einteilung der Patienten in die ISACHC-Klassen wurde durchgeführt, ohne dass der BNP-Wert des Patienten bekannt war. Anhand der BNP-Werte kann also auch auf die ISACHC-Klasse und somit den Schweregrad der Erkrankung geschlossen werden. Da jedoch zwischen den Klassen Ia und Ib und zwischen den Klassen IIIa und IIIb kein signifikanter Unterschied besteht, kann bislang anhand des BNP-Wertes nur eine Einteilung in die Gruppen I, II, oder III vorgenommen werden. Die klinische Relevanz dieses Ergebnisses könnte – wie auch in der Humanmedizin (135) – darin liegen, eine Therapiekontrolle mittels BNP-Wert durchzuführen. Weiterhin kann BNP auch zu einer besseren Einschätzung der klinischen Situation verhelfen und die Abstimmung der Medikation optimieren.

#### **4.2.1.8 Einfluss nicht-kardialer Krankheiten auf die BNP-Werte**

Zwischen den BNP-Werten von Hunden, bei denen ausschließlich eine Herzkrankheit diagnostiziert wurde, und den Werten der Patienten, die zusätzlich an weiteren, nicht-kardial bedingten Krankheiten litten, besteht kein signifikanter Unterschied. Die nicht-kardialen Krankheiten haben bei den Patienten der untersuchten Population also keinen Einfluss auf den BNP-Plasmaspiegel. BNP wird hauptsächlich über zwei Wege abgebaut. Zum einen wird es über die neutrale Endopeptidase, zum anderen über den natriuretischen Peptidrezeptor C metabolisiert (87). Da sich sowohl die neutrale Endopeptidase als auch der natriuretische Peptidrezeptor C in großem Maße in den Geweben der Nieren befindet, kann vermutet werden, dass eine akute oder chronische Nierenschädigung zum verminderten BNP-Abbau und somit zu einer erhöhten Plasmakonzentration beiträgt. Da in der vorliegenden Studie nur ein Patient mit dem Verdacht auf Niereninsuffizienz vertreten war, lässt sich für diese Fragestellung keine statistisch relevante Aussage treffen.

### 4.3 Schlussbetrachtung

Das BNP hat sich als geeigneter Marker für kardiovaskuläre Dysfunktion beim Hund herausgestellt. Da die BNP-Plasmakonzentration positiv und signifikant mit der Ausprägung der Herzkrankheit anhand der ISACHC-Klasse korreliert, kann BNP unabhängig von der Ursache den Grad der Dekompensation der Herzkrankheit aufzeigen.

In der Humanmedizin wird BNP bereits als Screeningtest zum Erkennen einer asymptomatischen linksventrikulären Funktionsstörung verwendet (132, 153). Ebenso werden mit Hilfe des BNP kardiale Ursachen von Dyspnoe von nicht-kardialen Ursachen abgegrenzt (154). Weiterhin kann der Erfolg einer Therapie beim Menschen mittels BNP sehr gut kontrolliert werden (132). Steigende BNP-Plasmaspiegel lassen zudem ein Therapieversagen und eine erhöhte Mortalität des Patienten prognostizieren (132).

Noch hat BNP in der Veterinärmedizin nicht diese Bedeutung erlangt. Die Zahl der Studien, die sich mit der BNP-Messung beim Hund beschäftigen, ist bislang noch sehr gering. Weiterhin variiert die Patientenzahl dieser Studien zwischen drei und vierzig Patienten (in dieser Studie 72) und erlaubt daher nur eine eingeschränkte statistische Auswertung. Keine der in der Literatur angeführten Studien kann also mit den Versuchsbedingungen der humanmedizinischen Studien konkurrieren. Hier müssten weit angelegte Untersuchungen mit hoher Teilnehmerzahl durchgeführt werden.

Außerdem steht der Tiermedizin – im Gegensatz zur Humanmedizin – bislang kein Schnelltest für die Messung des kaninen BNP zur Verfügung. Nach wie vor muss die Untersuchung mit einem kostenintensiven und zeitaufwendigen Radioimmunoassay durchgeführt werden. So hat BNP beispielsweise in der Notfallmedizin zur Unterscheidung von kardial und nicht-kardial bedingten Ursachen für Dyspnoe keinerlei Relevanz. Es ist aber nicht von der Hand zu weisen, dass auch die Tiermedizin außerordentlich von einem einfachen diagnostischen Test profitieren würde. Mit seiner Hilfe ließen sich dyspnoeische Patienten mit chronischem Herzversagen von Patienten mit Krankheiten des Respirationstrakts unterscheiden. Asymptomatische Patienten könnten frühzeitig aufgespürt werden. Die klinische Relevanz der Herzkrankheit ließe sich schnell feststellen.

Die vorliegende Studie hatte sich als Ziel gesetzt, einen Zusammenhang aufzuzeigen zwischen dem BNP-Plasmaspiegel eines Patienten und dem klinischen Erscheinungsbild (ISACHC-Klassifizierung). Dieser Zusammenhang hat sich als sehr hoch signifikant herausgestellt. Es haben sich für die BNP-Werte der ISACHC-Klassen folgende Mittelwerte ergeben: Ia: 32,57 [22,54; 42,6], Ib: 54,53 [30,99; 78,06], II: 98,35 [66,95; 129,75], IIIa: 169,48 [115,46; 223,51], IIIb: 150,78 [129,63; 171,93]. Der Median der Gruppen lag bei: Ia: 29,46, Ib: 44,76, II: 83,68; IIIa: 178,06 und bei IIIb: 148,39.

In der untersuchten Population weichen die Mittelwerte nicht stark vom Median ab. Die Verteilung der Werte entspricht daher annähernd einer Normalverteilung. Um eine statistisch signifikante Aussage zu treffen, reicht jedoch die Anzahl der Werte pro ISACHC-Gruppe nicht aus. Auch ein Rückschluss vom BNP-Wert eines Patienten auf die ISACHC-Klasse kann noch nicht gezogen werden.

Auch darf die Tatsache nicht außer Acht gelassen werden, dass in der statistischen Untersuchung der Werte kein signifikanter Unterschied zwischen den Klassen Ia und Ib sowie zwischen IIIa und IIIb gezeigt werden konnte. Dies weist darauf hin, dass noch keine eindeutige Zuordnung der Patienten in die ISACHC-Klassen anhand der BNP-Werte möglich ist. Die Ergebnisse schließen aber auch nicht aus, dass dies prinzipiell möglich wäre. An dieser Stelle muss nochmals darauf hingewiesen werden, dass eine Gruppe von vier Patienten (ISACHC IIIb) nur eine tendenzielle Entwicklung anzeigen kann, sonst aber nicht ausreicht, um statistisch eindeutige Ergebnisse zu liefern. Möglicherweise besteht also auch zwischen den Klassen IIIa und IIIb ein signifikanter Unterschied, der sich erst bei der Untersuchung einer größeren Gruppe zeigen würde.

Die durchgeführte Studie zeigt die hoch signifikante Korrelation von BNP-Plasmawerten kaninischer Patienten mit der klinischen Einteilung von kardiovaskulären Krankheiten mittels ISACHC-Klassifizierung.

## 5 Zusammenfassung

BNP (Brain Natriuretic Peptide) gehört zu einer Gruppe von strukturell ähnlichen, aber genetisch unterschiedlichen Proteinen, den natriuretischen Peptiden. Ihre vordergründigste Wirkung sind eine forcierte Natriurese und Diurese. Sie gelten als potente Vor- und Nachlastsenker sowie als wichtigste physiologische Gegenspieler des Renin-Angiotensin-Aldosteronsystems. BNP wird unter parakrinem Einfluss und nach mechanischer Belastung – wie sie bei linksventrikulären Stauungserscheinungen vorkommt – vermehrt im linken Atrium und im linken Ventrikel hergestellt und in die Blutbahn ausgeschüttet.

In der vorliegenden Studie wurde der Zusammenhang der BNP-Plasmakonzentration mit dem klinischen Erscheinungsbild herzkranker Hunde untersucht. Es sollte gezeigt werden, ob zwischen der BNP-Plasmakonzentration und der Einteilung der Patienten in die ISACHC-Klassen eine statistisch signifikante Beziehung besteht.

Es kamen 72 Tiere zur Auswertung. Bei allen Tieren wurde eine klinische und eine sonographische Untersuchung durchgeführt. Wenn nötig wurden Röntgenbilder der Lunge angefertigt. Anhand der dadurch gewonnenen Befunde wurden sie in die ISACHC-Klassen eingeteilt. Die BNP-Plasmakonzentration in pg/ml wurde mit einem – für kanines BNP spezifischen – Radioimmunoassay bestimmt. Die BNP-Plasmakonzentration sowie weitere Parameter – wie das Alter der Patienten, das Geschlecht, die Rasse, die Art und der Schweregrad der Herzkrankheit – wurden in einer multiplen Varianzanalyse untersucht. Einzig für den Zusammenhang zwischen der BNP-Plasmakonzentration und der Einteilung in die ISACHC-Klassen konnte in der Multivarianzanalyse ein statistisch hoch signifikanter Zusammenhang gezeigt werden ( $p < 0,001$ ).

Der Mittelwert des BNP-Plasmaspiegels war bei den verschiedenen ISACHC-Klassen wie folgt: Ia: 32,57 [22,54; 42,6], Ib: 54,53 [30,99; 78,06], II: 98,35 [66,95; 129,75], IIIa: 169,48 [115,46; 223,51], IIIb: 150,78 [129,63; 171,93], mit einem Median von: Ia: 29,46, Ib: 44,76, II: 83,68; IIIa: 178,06 und bei IIIb: 148,39.

In Relation mit der ISACHC-Klasse – und somit dem Grad der Dekompensation der vorhandenen Herzkrankheit – erhöhte sich auch die BNP-Plasmakonzentration. Zwischen den einzelnen ISACHC-Gruppen bestand ein signifikanter Unterschied. Nur zwischen den Gruppen Ia und Ib sowie IIIa und IIIb konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

BNP eignet sich als guter Marker für den Grad der Dekompensation von Herzkrankheiten beim Hund. Anhand dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Sensitivität des Markers zur Erkennung einer klinisch manifesten Herzinsuffizienz bei 25/31 liegt (rund 80 Prozent). Dies ist als eine gute Sensitivität des Tests einzuschätzen. Mit dieser Studie wird erstmals in der Tiermedizin die diagnostische Wertigkeit von BNP ermittelt.



## 6 Summary

### Measurement of Brain Natriuretic Peptide in dogs with cardiac disease

BNP (Brain Natriuretic Peptide) is a member of structurally similar but genetically distinct peptides, the natriuretic peptides. They promote natriuresis and diuresis. They are known to induce a potent reduction in pre- and afterload, and as most important physiological antagonists of the renin angiotensin aldosterone system. Under paracrine influence and mechanical stress, as it is known with left ventricular congestions, BNP is produced in the left atrium and ventricle and is released into the blood stream.

In the present study the relation of plasma BNP concentrations and the clinical appearance of dogs with heart disease is examined. The objective was to determine if there is a significant statistical relationship between the plasma BNP concentration and the graduation of the patients into the ISACHC classification.

Seventytwo dogs were used for this study. A physical examination and echocardiogram were performed on each dog. If necessary radiographs of the lungs were done. Based on the results they were placed into the ISACHC classification. The plasma BNP concentration in pg/ml was measured with a - for canine BNP specific - radio immuno assay. The plasma BNP concentration and other parameters – age, sex, breed, type and grade of the heart disease – underwent a multiple variance analysis. Only the relation between the plasma BNP concentration and the ISACHC classification showed a statistical high significant correlation ( $p < 0,001$ ) in the multiple variance analysis.

The mean plasma BNP concentration was in the different ISACHC classes as follows: Ia: 32,57 [22,54; 42,6], Ib: 54,53 [30,99; 78,06], II: 98,35 [66,95; 129,75], IIIa: 169,48 [115,46; 223,51], IIIb: 150,78 [129,63; 171,93], with a median of: Ia: 29,46, Ib: 44,76, II: 83,68; IIIa: 178,06; IIIb: 148,39.

The plasma BNP concentration raised in relation with the ISACHC classes - and consequently with the grade of decompensation of the existing heart disease. There was a significant difference between the different ISACHC classes. Only between the groups Ia and Ib, as well as IIIa and IIIb, a significant difference was not found.

BNP suits well as a good marker for the grade of decompensation of heart diseases of the dog. BNP qualifies well as a marker for the grade of decompensation in heart failed dogs. Based on this study, it could be shown, that the sensitivity of the marker is (25/31) – about 80 Percent – to identify clinical manifest heart insufficiency. This is to be estimated as a good sensitivity of the test. With this study the diagnostical value of BNP is calculated for the first time in veterinary medicine.

## 7 Anhang

### 7.1 Tabellenverzeichnis:

Tabelle 1: Verteilung Rassen .....	42
Tabelle 2: Häufigkeit Geschlecht .....	43
Tabelle 3: Häufigkeiten Alter .....	44
Tabelle 4: Herstellung der Verdünnungsreihe .....	51
Tabelle 5: Probenröhrcheninhalt nach Tag 1 .....	52
Tabelle 6: Häufigkeit ISACHC-Klassen .....	55
Tabelle 7: Herzbefunde und BNP-Plasmakonzentrationen der Patienten der Klasse ISACHC Ia .....	58
Tabelle 8: nicht-kardial bedingte Erkrankungen der Patienten der Klasse ISACHC Ia .....	59
Tabelle 9: Herzbefunde und BNP-Plasmakonzentrationen der Patienten der Klasse ISACHC Ib .....	61
Tabelle 10: nicht-kardial bedingte Erkrankungen der Patienten der Klasse ISACHC Ib .....	63
Tabelle 11: Herzbefunde und BNP-Plasmakonzentrationen der Patienten der Klasse ISACHC II .....	64
Tabelle 12: nicht-kardial bedingte Erkrankungen der Patienten der Gruppe ISACHC II .....	66
Tabelle 13: Herzbefunde und BNP-Plasmakonzentrationen der Patienten der Klasse ISACHC IIIa .....	68
Tabelle 14: Herzbefunde und BNP-Plasmakonzentrationen der Patienten der Klasse ISACHC IIIb .....	71
Tabelle 15: Korrelation von Alter mit BNP .....	81
Tabelle 16: Korrelation von LA/Ao mit BNP .....	81
Tabelle 17: Report Geschlecht .....	82
Tabelle 18: Anova-Tabelle Geschlecht .....	82
Tabelle 19: Report Rasse .....	83
Tabelle 20: Anova-Tabelle Rasse .....	83
Tabelle 21: Report Herzbefunde .....	84
Tabelle 22: Anova-Tabelle Herzbefund .....	84
Tabelle 23: Report Schweregrad .....	85
Tabelle 24: Anova-Tabelle Schweregrad .....	85
Tabelle 25: Report ISACHC-Klassen .....	86
Tabelle 26: Anova-Tabelle ISACHC-Klassen .....	86
Tabelle 27: Einfluss nicht-kardialer Krankheiten .....	87
Tabelle 28: Anova-Tabelle kardiale und zusätzliche nicht-kardiale Krankheiten .....	87
Tabelle 29: Modell 1, Signifikanzen .....	88
Tabelle 30: Variabilität zwischen den ISACHC-Gruppen .....	89
Tabelle 31: Parameterschätzung .....	90
Tabelle 32: Variabilität zwischen Art und Schweregrad der Herzkrankheit .....	90
Tabelle 33: Sensitivität des Testsystems in den verschiedenen ISACHC-Klassen .....	92

## 7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Struktur und Aminosäuresequenz des Brain Natriuretic Peptide.....	15
Abbildung 2: Transkription und Splicing von BNP.....	16
Abbildung 3: Altersverteilung der Patienten.....	44
Abbildung 6: Übersicht der Herzbefunde der Patienten der Klasse ISACHC Ib.....	62
Abbildung 7: Übersicht der Herzbefunde der Patienten der Klasse ISACHC II.....	65
Abbildung 9: Übersicht der Herzbefunde der Patienten der Klasse ISACHC IIIb.....	72
Abbildung 10: Streudiagramm für das Verhältnis von BNP zum Alter.....	73
Abbildung 11: Streudiagramm für das Verhältnis von BNP zu LA/Ao.....	74
Abbildung 12: Boxplot für das Verhältnis von BNP zum Geschlecht.....	75
Abbildung 13: Boxplot für das Verhältnis von BNP zur Rasse.....	76
Abbildung 14: Boxplot für das Verhältnis von BNP zur Art des Herzbefundes.....	77
Abbildung 15: Boxplots für das Verhältnis zwischen BNP und dem Schweregrad der Herzkrankheit.....	78
Abbildung 16: Boxplots für den Zusammenhang zwischen BNP und den ISACHC-Klassen	79
Abbildung 17: Boxplots für den Zusammenhang zwischen BNP bei Patienten mit kardialen und Patienten mit zusätzlichen nicht-kardialen Befunden.....	80
Abbildung 18: BNP-Plasmakonzentration der verschiedenen ISACHC-Klassen.....	92

### 7.3 Abkürzungsverzeichnis

Ao	=	Aorta
AoI	=	Aortenklappeninsuffizienz
ADH	=	Anti Diuretisches Hormon
ANOVA	=	Varianzanalyse
ANP	=	Atrial Natriuretic Peptide
AS	=	Aortenklappenstenose
AT1	=	Angiotensin-II-Rezeptor-1
AV III	=	Atrioventrikularblock III. Grades
Bef	=	Befunde
BNP	=	Brain Natriuretic Peptide
bzw.	=	beziehungsweise
cDNA	=	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
cGMP	=	zyklisches Guanosin-3', 5`-Monophosphat
CNP	=	C-type Natriuretic Peptide
cpm	=	counts per minute
CW-Doppler	=	kontinuierliches Dopplerverfahren
DCM	=	dilatative Kardiomyopathie
DIC	=	disseminierte intravasale Koagulopathie
Dirof	=	Dirofilariose
DNP	=	Dendroaspis Natriuretic Peptide
DSH	=	Deutscher Schäferhund
EDRF	=	endothelium-derived relaxing Factor
EDTA	=	Ethylendiamintetraessigsäure
ET-1	=	Endothelin 1
ET-A	=	Endothelinrezeptor-A
ET-B	=	Endothelinrezeptor-B
Fallot	=	Fallot-Tetralogie
FS	=	Fractional Shortening
ggr.	=	geringgradig
GAR	=	Ziegen-Anti-Kaninchen-IgG-Serum
GFR	=	glomeruläre Filtrationsrate
hgr.	=	hochgradig
HWS	=	Halswirbelsäule

Hyper	=	Hypertonie
ISACHC	=	International Small Animal Cardiac Health Council
IVS	=	interventrikuläres Septum
K	=	Kalium
kb	=	kilobase
kg	=	Kilogramm
LA	=	linkes Atrium
LgÖ	=	Lungenödem
LS	=	Leistungsschwäche
LVD	=	linksventrikuläre Dimensionen
LV-D.	=	linksventrikuläre Dilatation
LVFS	=	linksventrikuläre Verkürzungsfraction
LVPW	=	linksventrikuläre posteriore Wand
m	=	männlich
Mix 1	=	Mischlingshunde Gruppe 1
Mix 2	=	Mischlingshunde Gruppe 2
max	=	maximal
μCi	=	Mikrocurie
μg	=	Mikrogramm
mgr.	=	mittelgradig
MHz	=	Megahertz
mk	=	männlich kastriert
ml	=	Milliliter
MI	=	Mitralklappeninsuffizienz
min	=	Minute
μl	=	Mikroliter
mm	=	Millimeter
m/m	=	Masse/Masse
M-Mode	=	Motion-Mode
mRNA	=	messenger Ribonukleinsäure
m/v	=	Masse/Volumen
Myok	=	Myokarditis
Na	=	Natrium
N-ANP	=	N-terminales ANP

NEP	=	neutrale Endopeptidase 24.11
NO	=	Stickstoffmonoxid
NPR	=	natriuretischer Peptidrezeptor
NPR-A	=	natriuretischer Peptidrezeptor A
NPR-B	=	natriuretischer Peptidrezeptor B
NPR-C	=	natriuretischer Peptidrezeptor C
Nr.	=	Nummer
NRS	=	normal rabbit serum
NSB	=	non-specific Binding
NYHA	=	New York Heart Association
occ	=	okkult
PDA	=	patent ductus arteriosus/Ductus Arteriosus Persistens
pg	=	Picogramm
pmol	=	Picomol
PS	=	Pulmonalstenose
PuI	=	Pulmonalklappeninsuffizienz
Rasse 1	=	Rassehunde Gruppe 1
Rasse 2	=	Rassehunde Gruppe 1
RAAS	=	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
re	=	rechts
RHD	=	Rauhaardackel
SPSS	=	Statistical Package for the Social Science
subj.	=	subjektiv
SVT	=	supraventrikuläre Tachykardie
Synk	=	Synkope
T4	=	Thyroxin
TB	=	Total Binding
TC	=	Total Counts
TE	=	Thoraxerguss
TFA	=	Triflouressigsäure
TI	=	Trikuspidalklappeninsuffizienz
u.s.w.	=	und so weiter
Vd	=	Verdacht
VES	=	ventrikuläre Extrasystolen

VF	=	Vorhofflimmern
w	=	weiblich
wk	=	weiblich ovariohysterektomiert



## 8 LITERATURVERZEICHNIS

1. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988;332(6159):78-81.
2. Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. Brain natriuretic peptide-32: N-terminal six amino acid extended form of brain natriuretic peptide identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;155(2):726-32.
3. Tissandier O, Nasr A, Rainfray M, Hamon-Vilcot B, Piette F. [Atrial natriuretic factor and brain natriuretic peptide. Variations in elderly subjects with heart failure]. *Presse Med* 1995;24(38):1837-41.
4. Yasue H, Yoshimura M. Natriuretic peptides in the treatment of heart failure. *J Card Fail* 1996;2(4 Suppl):S277-85.
5. Tamura N, Ogawa Y, Chusho H, Nakamura K, Nakao K, Suda M, et al. Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(8):4239-44.
6. 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(1):H33-40.
7. Davis M, Espiner E, Richards G, Billings J, Town I, Neill A, et al. Plasma brain natriuretic peptide in assessment of acute dyspnoea. *Lancet* 1994;343(8895):440-4.
8. 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(1):89-94.
9. Kone BC. Molecular biology of natriuretic peptides and nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 2001;51(3):429-41.
10. 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(20):13928-32.
11. Itoh H, Nakao K. [Natriuretic peptide system]. *Nippon Rinsho* 1997;55(8):1923-36.
12. Itoh H, Suga S, Ogawa Y, Tanaka I, Nakao K. [Molecular biology and pharmacology of natriuretic peptide system]. *Nippon Rinsho* 1993;51(6):1548-56.
13. Bonow RO. New insights into the cardiac natriuretic peptides. *Circulation* 1996;93(11):1946-50.
14. Yandle TG, Richards AM, Nicholls MG, Cuneo R, Espiner EA, Livesey JH. Metabolic clearance rate and plasma half life of alpha-human atrial natriuretic peptide in man. *Life Sci* 1986;38(20):1827-33.

15. Mathisen P, Hall C, Simonsen S. Comparative study of atrial peptides ANF (1-98) and ANF (99-126) as diagnostic markers of atrial distension in patients with cardiac disease. *Scand J Clin Lab Invest* 1993;53(1):41-9.
16. Wei CM, Heublein DM, Perrella MA, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, et al. Natriuretic peptide system in human heart failure. *Circulation* 1993;88(3):1004-9.
17. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, Kikuta K, Kugiyama K, Jougasaki M, et al. Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 1994;90(1):195-203.
18. Yoshimura M, Yasue H, Morita E, Sakaino N, Jougasaki M, Kurose M, et al. Hemodynamic, renal, and hormonal responses to brain natriuretic peptide infusion in patients with congestive heart failure. *Circulation* 1991;84(4):1581-8.
19. Moe GW, Grima EA, Wong NL, Howard RJ, Armstrong PW. Dual natriuretic peptide system in experimental heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1993;22(3):891-8.
20. 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* 1999;60(7):860-4.
21. Chen HH, Burnett JC, Jr. C-type natriuretic peptide: the endothelial component of the natriuretic peptide system. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32(Suppl 3):S22-8.
22. Ogawa Y, Itoh H, Nakao K. Molecular biology and biochemistry of natriuretic peptide family. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995;22(1):49-53.
23. 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(17):752-9.
24. Schirger JA, Heublein DM, Chen HH, Lisy O, Jougasaki M, Wennberg PW, et al. Presence of Dendroaspis natriuretic peptide-like immunoreactivity in human plasma and its increase during human heart failure. *Mayo Clin Proc* 1999;74(2):126-30.
25. Lisy O, Jougasaki M, Heublein DM, Schirger JA, Chen HH, Wennberg PW, et al. Renal actions of synthetic dendroaspis natriuretic peptide. *Kidney Int* 1999;56(2):502-8.
26. Collins E, Bracamonte MP, Burnett JC, Jr., Miller VM. Mechanism of relaxations to dendroaspis natriuretic peptide in canine coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;35(4):614-8.
27. Porter JG, Arfsten A, Fuller F, Miller JA, Gregory LC, Lewicki JA. Isolation and functional expression of the human atrial natriuretic peptide clearance receptor cDNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;171(2):796-803.

28. Murthy KS, Makhoul GM. Identification of the G protein-activating domain of the natriuretic peptide clearance receptor (NPR-C). *J Biol Chem* 1999;274(25):17587-92.
29. Matsukawa N, Grzesik WJ, Takahashi N, Pandey KN, Pang S, Yamauchi M, et al. The natriuretic peptide clearance receptor locally modulates the physiological effects of the natriuretic peptide system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(13):7403-8.
30. Charles CJ, Espiner EA, Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG. Comparative bioactivity of atrial, brain, and C-type natriuretic peptides in conscious sheep. *Am J Physiol* 1996;270(6 Pt 2):R1324-31.
31. Hunt PJ, Espiner EA, Richards AM, Yandle TG, Frampton C, Nicholls MG. Interactions of atrial and brain natriuretic peptides at pathophysiological levels in normal men. *Am J Physiol* 1995;269(6 Pt 2):R1397-403.
32. Potter LR, Hunter T. Phosphorylation of the kinase homology domain is essential for activation of the A-type natriuretic peptide receptor. *Mol Cell Biol* 1998;18(4):2164-72.
33. Pandey KN, Oliver PM, Maeda N, Smithies O. Hypertension associated with decreased testosterone levels in natriuretic peptide receptor-A gene-knockout and gene-duplicated mutant mouse models. *Endocrinology* 1999;140(11):5112-9.
34. Oliver PM, Fox JE, Kim R, Rockman HA, Kim HS, Reddick RL, et al. Hypertension, cardiac hypertrophy, and sudden death in mice lacking natriuretic peptide receptor A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(26):14730-5.
35. Hirsch JR, Meyer M, Magert HJ, Forssmann WG, Mollerup S, Herter P, et al. cGMP-dependent and -independent inhibition of a K<sup>+</sup> conductance by natriuretic peptides: molecular and functional studies in human proximal tubule cells. *J Am Soc Nephrol* 1999;10(3):472-80.
36. Chang MS, Lowe DG, Lewis M, Hellmiss R, Chen E, Goeddel DV. Differential activation by atrial and brain natriuretic peptides of two different receptor guanylate cyclases. *Nature* 1989;341(6237):68-72.
37. Potter LR, Hunter T. Identification and characterization of the major phosphorylation sites of the B-type natriuretic peptide receptor. *J Biol Chem* 1998;273(25):15533-9.
38. Suga S, Nakao K, Hosoda K, Mukoyama M, Ogawa Y, Shirakami G, et al. Receptor selectivity of natriuretic peptide family, atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and C-type natriuretic peptide. *Endocrinology* 1992;130(1):229-39.
39. Yandle T, Smith M, Espiner E, Richards M, Nicholls G. Natriuretic peptide receptors in sheep lung and adrenal tissue (Abstract). *Endocrine Soc. Aust. Proc.* 1995;38:NZ 20.
40. Espiner EA, Richards AM, Yandle TG, Nicholls MG. Natriuretic hormones. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1995;24(3):481-509.

41. 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 ( Pt 1):83-8.
42. Norman JA, Little D, Bolgar M, Di Donato G. Degradation of brain natriuretic peptide by neutral endopeptidase: species specific sites of proteolysis determined by mass spectrometry. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;175(1):22-30.
43. Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. I: Natriuretic peptides. *J Hypertens* 1992;10(9):907-12.
44. Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. II: Natriuretic peptide receptors. *J Hypertens* 1992;10(10):1111-4.
45. Seilhamer JJ, Arfsten A, Miller JA, Lundquist P, Scarborough RM, Lewicki JA, et al. Human and canine gene homologs of porcine brain natriuretic peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;165(2):650-8.
46. 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(2):115-21.
47. Liu ZL, Wiedmeyer CE, Sisson DD, Solter PF. Cloning and characterization of feline brain natriuretic peptide. *Gene* 2002;292(1-2):183-90.
48. Oikawa S, Imai M, Ueno A, Tanaka S, Noguchi T, Nakazato H, et al. Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human atrial natriuretic polypeptide. *Nature* 1984;309(5970):724-6.
49. Liang F, Gardner DG. Mechanical strain activates BNP gene transcription through a p38/NF-kappaB-dependent mechanism. *J Clin Invest* 1999;104(11):1603-12.
50. Liang F, Wu J, Garami M, Gardner DG. Mechanical strain increases expression of the brain natriuretic peptide gene in rat cardiac myocytes. *J Biol Chem* 1997;272(44):28050-6.
51. Bruneau BG, de Bold AJ. Selective changes in natriuretic peptide and early response gene expression in isolated rat atria following stimulation by stretch or endothelin-1. *Cardiovasc Res* 1994;28(10):1519-25.
52. Yamamoto K, Burnett JC, Jr., Jougasaki M, Nishimura RA, Bailey KR, Saito Y, et al. Superiority of brain natriuretic peptide as a hormonal marker of ventricular systolic and diastolic dysfunction and ventricular hypertrophy. *Hypertension* 1996;28(6):988-94.
53. Nagaya N, Goto Y, Nishikimi T, Uematsu M, Miyao Y, Kobayashi Y, et al. Sustained elevation of plasma brain natriuretic peptide levels associated with progressive ventricular remodelling after acute myocardial infarction. *Clin Sci (Colch)* 1999;96(2):129-36.

54. Takahashi T, Allen PD, Izumo S. Expression of A-, B-, and C-type natriuretic peptide genes in failing and developing human ventricles. Correlation with expression of the Ca(2+)-ATPase gene. *Circ Res* 1992;71(1):9-17.
55. Hasegawa K, Fujiwara H, Doyama K, Miyamae M, Fujiwara T, Suga S, et al. Ventricular expression of brain natriuretic peptide in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1993;88(2):372-80.
56. Luchner A, Stevens TL, Borgeson DD, Redfield M, Wei CM, Porter JG, et al. Differential atrial and ventricular expression of myocardial BNP during evolution of heart failure. *Am J Physiol* 1998;274(5 Pt 2):H1684-9.
57. Nakagawa O, Ogawa Y, Itoh H, Suga S, Komatsu Y, Kishimoto I, et al. 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(3):1280-7.
58. Hama N, Itoh H, Shirakami G, Nakagawa O, Suga S, Ogawa Y, et al. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation* 1995;92(6):1558-64.
59. Hystad ME, Klinge R, Spurkland A, Attramadal H, Hall C. Contrasting cardiac regional responses of A-type and B-type natriuretic peptide to experimental chronic heart failure. *Scand J Clin Lab Invest* 2000;60(4):299-309.
60. Borgeson DD, Stevens TL, Heublein DM, Matsuda Y, Burnett JC. Activation of myocardial and renal natriuretic peptides during acute intravascular volume overload in dogs: functional cardiorenal responses to receptor antagonism. *Clin Sci (Colch)* 1998;95(2):195-202.
61. Langenickel T, Pagel I, Hohnel K, Dietz R, Willenbrock R. Differential regulation of cardiac ANP and BNP mRNA in different stages of experimental heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278(5):H1500-6.
62. Magga J, Vuolteenaho O, Tokola H, Marttila M, Ruskoaho H. B-type natriuretic peptide: a myocyte-specific marker for characterizing load-induced alterations in cardiac gene expression. *Ann Med* 1998;30 Suppl 1:39-45.
63. Yoshimura M, Yasue H, Okumura K, Ogawa H, Jougasaki M, Mukoyama M, et al. Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *Circulation* 1993;87(2):464-9.
64. Giannessi D, Del Ry S, Vitale RL. The role of endothelins and their receptors in heart failure. *Pharmacol Res* 2001;43(2):111-26.
65. Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie: Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg Berlin Oxford; 1996.*
66. Miyauchi T, Yorikane R, Sakai S, Sakurai T, Okada M, Nishikibe M, et al. Contribution of endogenous endothelin-1 to the progression of cardiopulmonary alterations in rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Circ Res* 1993;73(5):887-97.

67. Yorikane R, Sakai S, Miyauchi T, Sakurai T, Sugishita Y, Goto K. Increased production of endothelin-1 in the hypertrophied rat heart due to pressure overload. *FEBS Lett* 1993;332(1-2):31-4.
68. Sakai S, Miyauchi T, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure. *Nature* 1996;384(6607):353-5.
69. Zolk O, Quatteck J, Sitzler G, Schrader T, Nickenig G, Schnabel P, et al. Expression of endothelin-1, endothelin-converting enzyme, and endothelin receptors in chronic heart failure. *Circulation* 1999;99(16):2118-23.
70. Colucci WS. Molecular and cellular mechanisms of myocardial failure. *Am J Cardiol* 1997;80(11A):15L-25L.
71. McGregor A, Richards M, Espiner E, Yandle T, Ikram H. Brain natriuretic peptide administered to man: actions and metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70(4):1103-7.
72. Richards AM, Crozier IG, Holmes SJ, Espiner EA, Yandle TG, Frampton C. Brain natriuretic peptide: natriuretic and endocrine effects in essential hypertension. *J Hypertens* 1993;11(2):163-70.
73. Paradis NA, Rose MI, Garg U. The effect of global ischemia and reperfusion on the plasma levels of vasoactive peptides. The neuroendocrine response to cardiac arrest and resuscitation. *Resuscitation* 1993;26(3):261-9.
74. Opie LH. *Drugs for the heart*. 5 ed. Philadelphia, Pennsylvania: Saunders; 2001.
75. Silbernagl S, Despopoulos A. *Taschenatlas der Physiologie*. 3 ed. Stuttgart, New York: Thieme; 1988.
76. Wiese S, Breyer T, Dragu A, Wakili R, Burkard T, Schmidt-Schweda S, et al. Gene expression of brain natriuretic peptide in isolated atrial and ventricular human myocardium: influence of angiotensin II and diastolic fiber length. *Circulation* 2000;102(25):3074-9.
77. Harada M, Saito Y, Kuwahara K, Ogawa E, Ishikawa M, Nakagawa O, et al. Interaction of myocytes and nonmyocytes is necessary for mechanical stretch to induce ANP/BNP production in cardiocyte culture. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31(Suppl 1):S357-9.
78. Hanford DS, Thuerauf DJ, Murray SF, Glembotski CC. Brain natriuretic peptide is induced by alpha 1-adrenergic agonists as a primary response gene in cultured rat cardiac myocytes. *J Biol Chem* 1994;269(42):26227-33.
79. Magga J, Marttila M, Mantymaa P, Vuolteenaho O, Ruskoaho H. Brain natriuretic peptide in plasma, atria, and ventricles of vasopressin- and phenylephrine-infused conscious rats. *Endocrinology* 1994;134(6):2505-15.

80. Thibault G, Charbonneau C, Bilodeau J, Schiffrin EL, Garcia R. Rat brain natriuretic peptide is localized in atrial granules and released into the circulation. *Am J Physiol* 1992;263(2 Pt 2):R301-9.
81. Hasegawa K, Fujiwara H, Doyama K, Mukoyama M, Nakao K, Fujiwara T, et al. Ventricular expression of atrial and brain natriuretic peptides in dilated cardiomyopathy. An immunohistochemical study of the endomyocardial biopsy specimens using specific monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 1993;142(1):107-16.
82. Pemberton CJ, Yandle TG, Rademaker MT, Charles CJ, Aitken GD, Espiner EA. Amino-terminal proBNP in ovine plasma: evidence for enhanced secretion in response to cardiac overload. *Am J Physiol* 1998;275(4 Pt 2):H1200-8.
83. Rademaker MT, Charles CJ, Kosoglou T, Protter AA, Espiner EA, Nicholls MG, et al. Clearance receptors and endopeptidase: equal role in natriuretic peptide metabolism in heart failure. *Am J Physiol* 1997;273(5 Pt 2):H2372-9.
84. Fitzpatrick MA, Nicholls MG, Espiner EA, Ikram H, Bagshaw P, Yandle TG. Neurohumoral changes during onset and offset of ovine heart failure: role of ANP. *Am J Physiol* 1989;256(4 Pt 2):H1052-9.
85. Seymour AA, Abboa-Offei BE, Smith PL, Mathers PD, Asaad MM, Rogers WL. Potentiation of natriuretic peptides by neutral endopeptidase inhibitors. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995;22(1):63-9.
86. Nawarskas J, Rajan V, Frishman WH. Vasopeptidase inhibitors, neutral endopeptidase inhibitors, and dual inhibitors of angiotensin-converting enzyme and neutral endopeptidase. *Heart Dis* 2001;3(6):378-85.
87. Kukkonen P, Vuolteenaho O, Ruskoaho H. Basal and volume expansion-stimulated plasma atrial natriuretic peptide concentrations and hemodynamics in conscious rats: effects of SCH 39.370, an endopeptidase inhibitor, and C-ANF-(4-23), a clearance receptor ligand. *Endocrinology* 1992;130(2):755-65.
88. Chiu PJ, Tetzloff G, Romano MT, Foster CJ, Sybertz EJ. Influence of C-ANF receptor and neutral endopeptidase on pharmacokinetics of ANF in rats. *Am J Physiol* 1991;260(1 Pt 2):R208-16.
89. Hashimoto Y, Nakao K, Hama N, Imura H, Mori S, Yamaguchi M, et al. Clearance mechanisms of atrial and brain natriuretic peptides in rats. *Pharm Res* 1994;11(1):60-4.
90. Kishimoto I, Nakao K, Suga S, Hosoda K, Yoshimasa T, Itoh H, et al. Down-regulation of C-receptor by natriuretic peptides via ANP-B receptor in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1993;265(4 Pt 2):H1373-9.
91. Richards AM, Crozier IG, Yandle TG, Espiner EA, Ikram H, Nicholls MG. Brain natriuretic factor: regional plasma concentrations and correlations with haemodynamic state in cardiac disease. *Br Heart J* 1993;69(5):414-7.
92. Woods RL, Jones MJ. Atrial, B-type, and C-type natriuretic peptides cause mesenteric vasoconstriction in conscious dogs. *Am J Physiol* 1999;276(5 Pt 2):R1443-52.

93. Chen HH, Burnett JC. Natriuretic peptides in the pathophysiology of congestive heart failure. *Curr Cardiol Rep* 2000;2(3):198-205.
94. Grantham JA, Borgeson DD, Burnett JC, Jr. BNP: pathophysiological and potential therapeutic roles in acute congestive heart failure. *Am J Physiol* 1997;272(4 Pt 2):R1077-83.
95. Stevens TL, Rasmussen TE, Wei CM, Kinoshita M, Matsuda Y, Burnett JC, Jr. Renal role of the endogenous natriuretic peptide system in acute congestive heart failure. *J Card Fail* 1996;2(2):119-25.
96. Chen HH, Grantham JA, Schirger JA, Jougasaki M, Redfield MM, Burnett JC, Jr. Subcutaneous administration of brain natriuretic peptide in experimental heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(5):1706-12.
97. 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(2-3):143-8.
98. Charles CJ, Espiner EA, Nicholls MG, Rademaker MT, Richards AM. Chronic infusions of brain natriuretic peptide in conscious sheep: bioactivity at low physiological levels. *Clin Sci (Lond)* 1998;95(6):701-8.
99. Clavell AL, Stingo AJ, Aarhus LL, Burnett JC, Jr. Biological actions of brain natriuretic peptide in thoracic inferior vena caval constriction. *Am J Physiol* 1993;265(6 Pt 2):R1416-22.
100. Lainchbury JG, Richards AM, Nicholls MG, Hunt PJ, Ikram H, Espiner EA, et al. The effects of pathophysiological increments in brain natriuretic peptide in left ventricular systolic dysfunction. *Hypertension* 1997;30(3 Pt 1):398-404.
101. 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(4):531-40.
102. Hart CY, Hahn EL, Meyer DM, Burnett JC, Jr., Redfield MM. Differential effects of natriuretic peptides and NO on LV function in heart failure and normal dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281(1):H146-54.
103. Hirose M, Furukawa Y, Kurogouchi F, Nakajima K, Miyashita Y, Chiba S. C-type natriuretic peptide increases myocardial contractility and sinus rate mediated by guanylyl cyclase-linked natriuretic peptide receptors in isolated, blood-perfused dog heart preparations. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;286(1):70-6.
104. Brunner-La Rocca HP, Kaye DM, Woods RL, Hastings J, Esler MD. Effects of intravenous brain natriuretic peptide on regional sympathetic activity in patients with chronic heart failure as compared with healthy control subjects. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(5):1221-7.
105. Morita H, Nishida Y, Motochigawa H, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H, et al. Effects of brain natriuretic peptide on renal nerve activity in conscious rabbits. *Am J Physiol* 1989;256(3 Pt 2):R792-6.



106. Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Hisanaga T, Maeda Y, Fukai D, et al. Attenuation of compensation of endogenous cardiac natriuretic peptide system in chronic heart failure: prognostic role of plasma brain natriuretic peptide concentration in patients with chronic symptomatic left ventricular dysfunction. *Circulation* 1997;96(2):509-16.
107. Muders F, Kromer EP, Griese DP, Pfeifer M, Hense HW, Riegger GA, et al. Evaluation of plasma natriuretic peptides as markers for left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 1997;134(3):442-9.
108. McDonagh TA, Robb SD, Murdoch DR, Morton JJ, Ford I, Morrison CE, et al. Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction. *Lancet* 1998;351(9095):9-13.
109. Nagaya N, Nishikimi T, Okano Y, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, et al. Plasma brain natriuretic peptide levels increase in proportion to the extent of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1998;31(1):202-8.
110. Hirata Y, Matsumoto A, Aoyagi T, Yamaoki K, Komuro I, Suzuki T, et al. Measurement of plasma brain natriuretic peptide level as a guide for cardiac overload. *Cardiovasc Res* 2001;51(3):585-91.
111. Motwani JG, McAlpine H, Kennedy N, Struthers AD. Plasma brain natriuretic peptide as an indicator for angiotensin-converting-enzyme inhibition after myocardial infarction. *Lancet* 1993;341(8853):1109-13.
112. Choy AM, Darbar D, Lang CC, Pringle TH, McNeill GP, Kennedy NS, et al. Detection of left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction: comparison of clinical, echocardiographic, and neurohormonal methods. *Br Heart J* 1994;72(1):16-22.
113. Bettencourt P, Ferreira A, Pardal-Oliveira N, Pereira M, Queiros C, Araujo V, et al. Clinical significance of brain natriuretic peptide in patients with postmyocardial infarction. *Clin Cardiol* 2000;23(12):921-7.
114. Kohno M, Horio T, Yokokawa K, Murakawa K, Yasunari K, Akioka K, et al. Brain natriuretic peptide as a cardiac hormone in essential hypertension. *Am J Med* 1992;92(1):29-34.
115. Ghali JK, Liao Y, Simmons B, Castaner A, Cao G, Cooper RS. The prognostic role of left ventricular hypertrophy in patients with or without coronary artery disease. *Ann Intern Med* 1992;117(10):831-6.
116. Clerico A, Iervasi G, Del Chicca MG, Emdin M, Maffei S, Nannipieri M, et al. 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(3):170-9.
117. Mizuno Y, Yoshimura M, Harada E, Nakayama M, Sakamoto T, Shimasaki Y, et al. Plasma levels of A- and B-type natriuretic peptides in patients with hypertrophic cardiomyopathy or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2000;86(9):1036-40, A11.

118. Brookes CI, Kemp MW, Hooper J, Oldershaw PJ, Moat NE. Plasma brain natriuretic peptide concentrations in patients with chronic mitral regurgitation. *J Heart Valve Dis* 1997;6(6):608-12.
119. Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, Mabuchi N, Hayashi M, Tsutsui T, et al. High levels of plasma brain natriuretic peptide and interleukin-6 after optimized treatment for heart failure are independent risk factors for morbidity and mortality in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(5):1587-93.
120. Brockhoff C, Warnholtz A, Munzel T. [Atrial natriuretic peptides: diagnostic and therapeutic potential]. *Ther Umsch* 2000;57(5):305-12.
121. Morita E, Yasue H, Yoshimura M, Ogawa H, Jougasaki M, Matsumura T, et al. Increased plasma levels of brain natriuretic peptide in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 1993;88(1):82-91.
122. Sumida H, Yasue H, Yoshimura M, Okumura K, Ogawa H, Kugiyama K, et al. Comparison of secretion pattern between A-type and B-type natriuretic peptides in patients with old myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1995;25(5):1105-10.
123. Arakawa N, Nakamura M, Aoki H, Hiramori K. Plasma brain natriuretic peptide concentrations predict survival after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1996;27(7):1656-61.
124. Omland T, Aakvaag A, Bonarjee VV, Caidahl K, Lie RT, Nilsen DW, et al. Plasma brain natriuretic peptide as an indicator of left ventricular systolic function and long-term survival after acute myocardial infarction. Comparison with plasma atrial natriuretic peptide and N-terminal proatrial natriuretic peptide. *Circulation* 1996;93(11):1963-9.
125. Yokoyama Y, Tanabe K, Yamada S, Itoh H. [Changes in plasma level of brain natriuretic peptide during exercise in recovery phase of myocardial infarction and the clinical significance]. *J Cardiol* 1996;27(3):121-31.
126. Nagaya N, Nishikimi T, Goto Y, Miyao Y, Kobayashi Y, Morii I, et al. Plasma brain natriuretic peptide is a biochemical marker for the prediction of progressive ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1998;135(1):21-8.
127. Sisson D. The Diagnostic Potential of Natriuretic Peptides in Heart Failure. *Journal of Veterinary Cardiology* 2000;2:5-7.
128. 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* 1999;61(5):523-9.
129. Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, Hisanaga T, Kinoshita M. Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker of high left ventricular end-diastolic pressure in patients with symptomatic left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 1998;135(5 Pt 1):825-32.

130. Akioka K, Takeuchi K, Yanagi S, Hirota K, Sakamoto K, Yoshimura T, et al. Prognostic value of Doppler transmittal flow patterns and cardiac natriuretic peptides in patients with chronic congestive heart failure admitted for episodes of acute decompensation. *Heart Vessels* 2000;15(2):53-60.
131. Selvais PL, Donckier JE, Robert A, Laloux O, van Linden F, Ahn S, et al. Cardiac natriuretic peptides for diagnosis and risk stratification in heart failure: influences of left ventricular dysfunction and coronary artery disease on cardiac hormonal activation. *Eur J Clin Invest* 1998;28(8):636-42.
132. Cheng V, Kazanagra R, Garcia A, Lenert L, Krishnaswamy P, Gardetto N, et al. A rapid bedside test for B-type peptide predicts treatment outcomes in patients admitted for decompensated heart failure: a pilot study. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(2):386-91.
133. Koglin J, Pehlivanli S, Schwaiblmair M, Vogeser M, Cremer P, vonScheidt W. Role of brain natriuretic peptide in risk stratification of patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001;38(7):1934-41.
134. Bettencourt P, Ferreira A, Dias P, Pimenta J, Frioies F, Martins L, et al. Predictors of prognosis in patients with stable mild to moderate heart failure. *J Card Fail* 2000;6(4):306-13.
135. 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(9210):1126-30.
136. Yu CM, Sanderson JE. Plasma brain natriuretic peptide--an independent predictor of cardiovascular mortality in acute heart failure. *Eur J Heart Fail* 1999;1(1):59-65.
137. Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F, et al. [Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator in patients with primary pulmonary hypertension]. *J Cardiol* 2001;37(2):110-1.
138. Ishii J, Nomura M, Ito M, Naruse H, Mori Y, Wang JH, et al. Plasma concentration of brain natriuretic peptide as a biochemical marker for the evaluation of right ventricular overload and mortality in chronic respiratory disease. *Clin Chim Acta* 2000;301(1-2):19-30.
139. Buckley MG, Marcus NJ, Yacoub MH, Singer DR. Prolonged stability of brain natriuretic peptide: importance for non-invasive assessment of cardiac function in clinical practice. *Clin Sci (Colch)* 1998;95(3):235-9.
140. Friedl W, Mair J, Thomas S, Pichler M, Puschendorf B. Natriuretic peptides and cyclic guanosine 3',5'-monophosphate in asymptomatic and symptomatic left ventricular dysfunction. *Heart* 1996;76(2):129-36.
141. Niinuma H, Nakamura M, Hiramori K. Plasma B-type natriuretic peptide measurement in a multiphasic health screening program. *Cardiology* 1998;90(2):89-94.

142. Morrison LK, Harrison A, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Maisel A. Utility of a rapid B-natriuretic peptide assay in differentiating congestive heart failure from lung disease in patients presenting with dyspnea. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(2):202-9.
143. Stein BC, Levin RI. Natriuretic peptides: physiology, therapeutic potential, and risk stratification in ischemic heart disease. *Am Heart J* 1998;135(5 Pt 1):914-23.
144. Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of veterinary internal medicine*. 5 ed. Philadelphia, Pennsylvania: Saunders; 2000.
145. Tietgen K. die Messung von "Brain Natriuretic Peptide" (BNP) bei gesunden Hunden: Medizinische Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians Universität München; 2003.
146. Boon JA. *Manual of Veterinary Echocardiography*. 1 ed: Lippincott Williams and Wilkins; 1998.
147. 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(11):1818-24.
148. 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(2):172-7.
149. Waku S, Iida N, Ishihara T. Significance of brain natriuretic peptide measurement as a diagnostic indicator of cardiac function. *Methods Inf Med* 2000;39(3):249-53.
150. Luchner A, Muders F, Dietl O, Friedrich E, Blumberg F, Protter AA, et al. Differential expression of cardiac ANP and BNP in a rabbit model of progressive left ventricular dysfunction. *Cardiovasc Res* 2001;51(3):601-7.
151. Kittleson MD, Kienle RD. *Small Animal Cardiovascular Medicine*. St. Louis, USA: Mosby, Inc.; 1998.
152. Arad M, Elazar E, Shotan A, Klein R, Rabinowitz B. Brain and atrial natriuretic peptides in patients with ischemic heart disease with and without heart failure. *Cardiology* 1996;87(1):12-7.
153. Maisel AS, Koon J, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Gardetto N, et al. Utility of B-natriuretic peptide as a rapid, point-of-care test for screening patients undergoing echocardiography to determine left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 2001;141(3):367-74.
154. Dao Q, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Harrison A, Amirnovin R, Lenert L, et al. Utility of B-type natriuretic peptide in the diagnosis of congestive heart failure in an urgent-care setting. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(2):379-85.

## 9 DANKSAGUNG

Frau Univ.-Prof. Dr. med. vet. Dr. habil. Katrin Hartmann danke ich für die Möglichkeiten, das Patientengut an der I. Medizinischen Tierklinik zu akquirieren.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. vet. Dr. habil. Johannes Hirschberger danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und seine freundliche und umfassende Unterstützung während der gesamten Studie. Er war für Fragen und Diskussionen jederzeit ansprechbar.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. Hermann Ammer für die Möglichkeit zur Durchführung des Radioimmunoassays, für seine herzliche, geduldige und hervorragende Beratung und die produktiven Anregungen.

Ich danke Herrn Priv.-Doz. Dr. Reinhold Erben für die Überlassung der Speed Vac® zur Trocknung der Proben, für seine ausgezeichnete Beratung und Unterstützung.

Herrn Dr. Tom Schaffhauser danke ich für seine außerordentliche, fachliche und moralische Betreuung und für die Durchsicht des Manuskripts.

Ein großes Dankeschön möchte ich vor allem meiner Kollegin und Mitstreiterin Katrin Tietgen für ihre Freundschaft, ihren Beistand und Unterstützung aussprechen.

Ebenso möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der I. Medizinischen Tierklinik für die gute Zusammenarbeit, die Hilfe bei so manchen Problemen und die über lange Zeit gewährte Unterstützung bedanken.

Ich danke vor allem meiner Mutter, für ihre liebevolle, langjährige, persönliche und finanzielle Unterstützung. Ohne sie wäre die Durchführung dieser Arbeit niemals möglich gewesen.

Ganz herzlich sei auch Philipp Goller gedankt, der mir durch seine kritische Meinung oft geholfen hat, Dinge auch aus anderer Perspektive zu betrachten, und mir durch seinen Beistand dazu verholfen hat, diese Arbeit zum Abschluss zu bringen.

## 10 LEBENS LAUF

Name: Natalie Häussler

Geburtsdatum: 16. Januar 1974

Geburtsort: Luzern, Schweiz

Eltern: Gertrud Häussler

Schulbildung: 1981-1982 Grundschule des Kanton Basel (Schweiz)  
1982-1985 Grundschule Mainz  
1985-1994 Maria-Ward Schule in Mainz  
06/1994 Abitur

Studium: 1994-2000 Studium der Veterinärmedizin an der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
08/2000 Tierärztliches Staatsexamen

Approbation: erteilt am 17. Oktober 2000

Berufliche Tätigkeit: seit 01/2001 Doktorandin an der I. Medizinischen Tierklinik der  
LMU München  
06/2002- wissenschaftliche Mitarbeiterin an der I. Medizinischen  
09/2003 Tierklinik der LMU München  
02/2004 wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Chirurgischen  
Tierklinik der LMU München