



TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

FAKULTÄT FÜR MEDIZIN

**NT-proBNP als Prädiktor von
major adverse cardiovascular events
in der Kinderkardiologie**

Jonas Florian Palm

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München zur Erlangung eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Florian Eyer

Prüfer*innen der Dissertation:

1. Prof. Dr. Peter Ewert
2. apl. Prof. Dr. Michael Hauser
3. Prof. Dr. Heiko Stern

Die Dissertation wurde am 27.06.2022 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 15.08.2023 angenommen.

Vorbemerkung

Bei der folgenden Dissertation wurde die Form der publikationsbasierten Promotion (gemäß TUM Promotionsordnung §6) gewählt, basierend auf zwei akzeptierten Erstautorenveröffentlichungen des Doktoranden. Den als Appendix beigefügten Originalarbeiten kann man jeweils die detaillierten Ausführungen zu Einleitung, Methoden, Resultaten und Diskussion entnehmen. Im folgenden einleitenden Textteil werden die beiden Publikationen zusammenfassend dargestellt, wobei auf die wichtigsten Methoden und Ergebnisse kurz eingegangen wird.

Publikationsliste

Palm Jonas, Hoffmann Georg, Klawonn Frank, Tutarel Oktay, Palm Herbert, Holdenrieder Stefan, Ewert Peter. **Continuous, complete and comparable NT-proBNP reference ranges in healthy children.** *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2020, 58(9), 1509–1516.

Impact Factor: 3,694 (Stand zum Zeitpunkt der Einreichung)

DOI: <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-1185>

Palm Jonas, Holdenrieder Stefan, Hoffmann Georg, Hörer Jürgen, Shi Ruibing, Klawonn Frank, Ewert Peter. **Predicting major adverse cardiovascular events in children with age-adjusted NT-proBNP.** *Journal of the American College of Cardiology* 2021, 78(19), 1890–1900.

Impact Factor: 24,094 (Stand zum Zeitpunkt der Einreichung)

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2021.08.056>

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
ALT	Alanin-Aminotransferase (Synonym für Glutamat-Pyruvat-Transaminase, GPT)
AUC	Fläche unter der Kurve (engl. <i>area under the curve</i>)
BNP	natriuretisches Peptid vom Typ B (engl. <i>B-type natriuretic peptide</i>)
CHD	angeborener Herzfehler (engl. <i>congenital heart disease</i>)
CRP	C-reaktives Protein
ECMO	extrakorporale Membranoxygenierung (engl. <i>extracorporeal membrane oxygenation</i>)
EF	Ejektionsfraktion
ESC	Europäische Gesellschaft für Kardiologie (engl. <i>European Society of Cardiology</i>)
IQR	Interquartilsabstand (engl. <i>interquartile range</i>)
KI	Konfidenzintervall
KHK	koronare Herzkrankheit
MACE	schwerwiegende kardiale Komplikation (engl. <i>major adverse cardiovascular event</i>)
NPR	natriuretischer Peptidrezeptor
NPV	negativer prädiktiver Wert (engl. <i>negative predictive value</i>)
NT-proBNP	N-terminales natriuretisches Peptid vom Typ B (engl. <i>N-terminal pro-B-type natriuretic peptide</i>)
OG	Obergrenze (engl. <i>cutoff</i>)
PPV	positiver prädiktiver Wert (engl. <i>positive predictive value</i>)
proBNP	natriuretisches Peptid vom pro-B-Typ (engl. <i>pro-B-type natriuretic peptide</i>)
ROC	Operationscharakteristik (engl. <i>receiver-operating characteristic</i>)
SD	Standardabweichung (engl. <i>standard deviation</i>)
UG	Untergrenze
VAD	Herzunterstützungssystem (engl. <i>ventricular assist device</i>)
zlog-proBNP	zlog-Wert von NT-proBNP
μ	Mittelwert
σ	Standardabweichung (siehe SD)
2,5%tile	2,5. Perzentile
50%tile	50. Perzentile
97,5%tile	97,5. Perzentile

Inhaltsverzeichnis

Vorbemerkung	2
Publikationsliste	3
Abkürzungsverzeichnis	4
Inhaltsverzeichnis	5
1. Einleitung	7
1.1 Vergleich von Erwachsenen- und Kinderkardiologie	7
1.2 Pathophysiologie.....	9
1.2.1 Metabolismus und Wirkweise	9
1.2.2 Labormedizinische Aspekte.....	10
1.2.3 Altersdynamik	10
1.3 Klinischer Stellenwert von BNP/NT-proBNP	11
1.3.1 Erwachsenenkardiologie	11
1.3.2 Kinderkardiologie	12
1.4 Wissenschaftliche Fragestellungen und Aufbau der Arbeit	13
2. Material und Methoden	15
2.1 Publikation I: Deduktion des zlog-Wertes von NT-proBNP	15
2.1.1 Berechnung der 2,5. Perzentile und Funktionsverhalten	15
2.1.2 Regressionsanalyse	16
2.1.3 Deduktion einer NT-proBNP-spezifischen zlog-Formel.....	17
2.1.4 Anwendung von zlog-proBNP anhand zweier klinischer Beispiele	17
2.2 Publikation II: Prädiktion von MACE mit zlog-proBNP	18
2.2.1 Studienpopulation	18
2.2.2 Endpunkte.....	18
2.2.3 Zlog-Werte, zlog-proBNP und andere Biomarker.....	19
2.2.4 Statistische Auswertung	20
3. Ergebnisse	21
3.1 Publikation I	21
3.1.1 Ableitung kontinuierlicher Referenzintervalle	21
3.1.2 Deduktion eines NT-proBNP-spezifischen zlog-Wertes.....	26
3.1.3 Klinische Beispiele.....	26
3.2 Publikation II	30
3.2.1 Basischarakteristika.....	30
3.2.2 Nachbeobachtung und Auftreten von MACE	33
3.2.3 Prognostische Wertigkeit von zlog-proBNP	34
3.2.4 Einflussgröße Alter	38
3.2.5 Hochrisikopatienten: Neugeborene und Säuglinge	38

4. Diskussion	39
4.1 Publikation I	39
4.1.1 Kontinuierliche Referenzintervallgrenzen von NT-proBNP	39
4.1.2 NT-proBNP-spezifischer zlog-Wert	40
4.1.3 Klinische Beispiele	41
4.1.4 Einschränkungen der Studie	42
4.2 Publikation II	42
4.2.1 Rolle des Alters	42
4.2.2 Dreiecksbeziehung: Alter – MACE – NT-proBNP	43
4.2.3 Vergleich mit früheren Studien	44
4.2.4 Ausblick	45
4.2.5 Einschränkungen der Studie	45
5. Zusammenfassung	46
5.1 Publikation I	46
5.2 Publikation II	47
Literaturverzeichnis	49
Gleichungsverzeichnis	54
Tabellenverzeichnis	55
Abbildungsverzeichnis	55
Danksagung	56
Appendix	57
Ergänzende Inhalte	57
Publikation I	58
Publikation II	66

1. Einleitung

1.1 Vergleich von Erwachsenen- und Kinderkardiologie

Ab Mitte des 20. Jahrhunderts stieg die Prävalenz von Herz-Kreislauf-Erkrankungen und löste damit Infektionskrankheiten als häufigste Todesursache in den Industrienationen ab (Dalen et al. 2014). Mit zunehmendem Wohlstand und einer höheren Lebenserwartung wurden Adipositas, Hypercholesterinämie, Bluthochdruck und Diabetes mellitus zu Volkskrankheiten. Folgeerkrankungen wie die koronare Herzkrankheit (KHK), Myokardinfarkte und der plötzliche Herztod betrafen vermehrt große Teile der Bevölkerung. Inzwischen stellen Herz-Kreislauf-Erkrankungen die mit Abstand häufigste Todesursache in den Industrienationen dar, wobei die KHK an deren Spitze steht (Kindel 2021). Der Kardiologie kommt folglich ein hoher Stellenwert zu. Jährlich werden Forschungsgelder in Milliardenhöhe investiert, um erworbene Herzkrankheiten besser zu verstehen, Präventionsmaßnahmen zu ergreifen und neue Therapieansätze zu entwickeln. Buchstäblich Millionen von Patienten werden für klinische Studien rekrutiert. Bahnbrechende neue Medikamente und Biomarker ließen die Erwachsenenkardiologie im Laufe des 20. Jahrhunderts zum Maßstab der evidenzbasierten Medizin heranreifen (Kindel 2021).

Parallel zu dieser steilen Karriere entwickelte sich die Kinderkardiologie zu einem eigenständigen Fachgebiet. Im Gegensatz zur Erwachsenenkardiologie sind erworbene Herzerkrankungen bei Kindern in Industrienationen selten anzutreffen. Stattdessen weist die Mehrheit dieser kinder-kardiologischen Patienten angeborene Defekte mit strukturell abnormen Herzen auf (Kindel 2021). Allgemein stellen angeborene Herzfehler sogar die häufigste Fehlbildung bei Neugeborenen dar: 1 von 100 Lebendgeburten ist betroffen und bei jedem vierten Betroffenen ist ein Eingriff erforderlich (Hoffman & Kaplan 2002). Auf 1.000.000 Lebendgeburten kommen somit in etwa 2.000 Kinder mit behandlungsbedürftigen Herzfehlern (Hoffman & Kaplan 2002). Diese Zahl ist jedoch nur ein schwacher Vergleich zu den 8% (entsprechend 80.000 von 1.000.000) der Erwachsenen mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Berücksichtigt man zusätzlich die arterielle Hypertonie, steigt die Prävalenz sogar auf fast 50% an (Kindel 2021). Beide Fachbereiche, von denen sich der eine mit den häufig anzutreffenden erworbenen Herzerkrankungen Erwachsener und der andere mit den relativ seltenen strukturellen angeborenen Herzfehlern bei Kindern befasst, haben daher nur wenig Berührungspunkte.

Erwachsenenkardiologen stützen sich bei der Behandlung einer relativ homogenen Population auf die fundierte Evidenz großer Kohortenstudien und Leitlinien, die den Normen strenger klinischer Forschung genügen. Kinderkardiologen versuchen, diese fundierten Studienergebnisse auf eine Population zu transferieren, die in Bezug auf Alter und Diagnose sehr heterogen ist. Dabei übernehmen sie häufig Therapien, die von Erwachsenenkardiologen entwickelt wurden. Die Gründe dafür und welche Konsequenzen damit verbunden sind, sollen die folgenden Beispiele verdeutlichen.

Bei der COPERNICUS-Studie (*Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival*) wurden 2.289 erwachsene Patienten mit Herzinsuffizienz eingeschlossen, die nach dem Zufallsprinzip Carvedilol oder ein Placebo erhielten (Packer et al. 2002). Unter der Behandlung kam es zu einer signifikanten Reduktion schwerer kardialer Komplikationen (engl. *major adverse cardiovascular events*, MACE) und einer 27%igen Verringerung von Todesfällen und Krankenhauseinweisungen (Packer et al. 2002). An der pädiatrischen Carvedilol-Studie wenige Jahre später nahmen – entsprechend der niedrigen Prävalenz angeborener Herzfehler – mit 161 Kindern deutlich weniger Patienten teil (Shaddy et al. 2007). Bei 95 Probanden (59%) lag eine dilatative Kardiomyopathie und bei 66 Patienten (41%) ein angeborener Herzfehler vor. Von diesen wiederum hatten 23 Patienten (14%) einen linken und 43 (27%) einen rechten Systemventrikel (Shaddy et al. 2007). Die Kinder wurden analog zur COPERNICUS-Studie randomisiert und doppelblind behandelt (Packer et al. 2002; Shaddy et al. 2007). Unter der Therapie kam es zu einer Besserung der systolischen Pumpfunktion, erstaunlicherweise gleichermaßen in der Placebo- wie in der Verum-Gruppe (Shaddy et al. 2007). Die zweite Besonderheit war, dass sich unter der Therapie mit Carvedilol – ganz im Gegensatz zur COPERNICUS-Studie – kein Überlebensvorteil bei Kindern nachweisen ließ (Shaddy et al. 2007). Trotz der schwachen statistischen Ergebnisse wird Carvedilol nach wie vor häufig bei Kindern mit Herzinsuffizienz eingesetzt. Der Grund dafür liegt in der Expertenmeinung, dass der Wirknachweis des Medikaments nur an der fehlenden statistischen Aussagekraft der Studie scheiterte, die wiederum in der Heterogenität der Kohorte begründet ist (Kindel 2021).

Mittels einer post-hoc Analyse der pädiatrischen Carvedilol-Studie wurde die prognostische Bedeutung von BNP untersucht (Auerbach et al. 2010). Bei Erwachsenen hatte bereits eine Vielzahl von Studien mit äußerst homogenen Kollektiven gezeigt, dass BNP und der N-terminale Teil seines Propeptids (NT-proBNP) wertvolle prognostische Marker für die Vorhersage von MACE sind (Kragelund et al. 2005; Mishra et al. 2014). Für Kinder mit angeborenen Herzfehlern existierte bislang keine solche Studie. Für die post-hoc Analyse wurden 138 pädiatrische Patienten ausgewählt (Auerbach et al. 2010). Die Studie kam zu dem Ergebnis, dass ein BNP-Wert von >140 ng/L mit einem höheren Risiko für eine Krankenhauseinweisung, Herztransplantation oder Tod einhergeht (Auerbach et al. 2010). Diese Ergebnisse standen im Einklang mit einer Studie, deren Kollektiv ($n = 53$) ausschließlich aus Kindern mit Kardiomyopathien bestand und ähnliche Endpunkte verwendete (Price et al. 2006). Interessanterweise waren bei beiden Studien Neugeborene komplett ausgeschlossen worden und Säuglinge deutlich unterrepräsentiert (Auerbach et al. 2010; Price et al. 2006). Neugeborene und Säuglinge mit angeborenen Herzfehlern stellen jedoch eine kritische Patientengruppe innerhalb der Kinderkardiologie dar, weil sie von allen Altersstufen die höchste Sterblichkeitsrate besitzen (Gilboa et al. 2010). Gleichzeitig handelt es sich bei Säuglingen, die im ersten Lebensjahr versterben, überwiegend um Kinder mit angeborenen Herzfehlern (Gilboa et al. 2010). Häufig werden bei der Untersuchung von BNP/NT-proBNP, wie in diesen beiden Studien auch, Säuglinge und Kleinkinder wegen der ausgeprägten Altersabhängigkeit beider Biomarker ausgeschlossen. BNP und NT-proBNP sind aus noch nicht vollständig geklärten physiologischen Gründen bei

der Geburt typischerweise stark erhöht und sinken im Laufe des Säuglings- und Kleinkindalters stetig (Mir et al. 2003; Nir et al. 2009; Rauh & Koch 2003). Wegen ebendieser abweichenden Referenzintervalle werden Säuglinge und Kleinkinder häufig als „Ausreißer-Patienten“ betrachtet und von Studien ausgeschlossen, um bessere statistische Ergebnisse zu erzielen. Ein Lösungsansatz, der das Problem der altersabhängigen Referenzintervalle dieser Biomarker adressiert, existiert bislang nicht.

Zusammenfassend legen die Beispiele den Schluss nahe, dass kinder-kardiologische Studien aufgrund der geringen Prävalenz in der Regel bedeutend kleiner sind als in der Erwachsenen-kardiologie. Gleichzeitig wird die Signifikanz vieler Studienergebnisse durch die Diversität der verschiedenen angeborenen Herzfehler untergraben. Weil die beiden Biomarker BNP und NT-proBNP in der Erwachsenen-kardiologie zuverlässige prognostische Marker sind, wird Ähnliches für die Kinderkardiologie vermutet. Die Aussagekraft der bislang einzigen Studie an Kindern mit angeboren Herzfehlern, der post-hoc Analyse der Carvedilol-Studie, ist angesichts des äußerst kleinen ($n = 55$ mit angeborenen Herzfehlern) und heterogenen Kollektivs (37 Kinder mit rechtem und 18 mit linkem Systemventrikel) stark limitiert (Auerbach et al. 2010). Zudem waren die kritischen Altersgruppen (Neugeborenen und Säuglinge) nicht inkludiert oder stark unterrepräsentiert (Auerbach et al. 2010). Speziell diese Altersgruppe würde jedoch von einem prognostisch validen Biomarker in besonderem Maße profitieren.

Das übergeordnete Ziel der Promotionsarbeit ist es, die prognostische Aussagekraft von NT-proBNP zur Vorhersage von MACE in einer großen Kohorte von Kindern mit angeborenen Herzfehlern zu quantifizieren. Der vulnerablen Altersgruppe von Neugeborenen und Säuglingen soll dabei eine spezielle Bedeutung zukommen, da sie von einem evidenzbasierten Nutzen der NT-proBNP-Bestimmung besonders profitieren könnte. Bevor jedoch die konkreten wissenschaftlichen Fragen dieser Arbeit formuliert werden können, müssen wichtige pathophysiologische Aspekte von NT-proBNP betrachtet werden. In Zusammenschau mit dem aktuellen Forschungsstand werden bisherige Fragen und Problemstellungen identifiziert. Darauf basierend wird ein Lösungsansatz erarbeitet und anhand dessen die Ziele dieser Arbeit definiert.

1.2 Pathophysiologie

1.2.1 Metabolismus und Wirkweise

Die Synthese von BNP und NT-proBNP findet überwiegend in Kardiomyozyten statt. Stimuli wie eine Druck- oder Volumenüberlastung führen zu einer Dehnung der Herzhöhlen (Cantinotti et al. 2011). Über verschiedene Signalwege kommt es zur intrazellulären Freisetzung des inaktiven Vorläuferproteins proBNP (natriuretisches Peptid vom pro-B-Typ) (Cantinotti et al. 2011; Goetze et al. 2020). Dieses wird zu einem biologisch aktiven Teil, BNP, und einem inaktiven Metaboliten, NT-proBNP, prozessiert und sezerniert (Cantinotti et al. 2011; Goetze et al. 2020).

Die Wirkweise von BNP auf das kardiovaskuläre System ist vielfältig und wird über natriuretische Peptidrezeptoren (NPR) vermittelt (Goetze et al. 2020): (a) In der Niere kommt es zu einer Steigerung der Natriurese und Diurese. Folglich nimmt das zirkulierende Blutvolumen ab. (b) Im ZNS wird die Sympathikusaktivität gedämpft, wodurch in der Niere die Reninsekretion und Natriumreabsorption supprimiert werden. (c) In der Nebennierenrinde werden die Synthese und Sekretion von Aldosteron, und als Folge dessen die Natriumreabsorption gehemmt. (d) Die glatten Muskelzellen der Venen und Arterien erschlaffen. Dadurch werden Vor- und Nachlast reduziert (Goetze et al. 2020).

Zusammenfassend verringert die Kombination aus einer gesteigerten Natriurese und Diurese, einer systemischen Vasodilatation und einer Antagonisierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) die Druck- und Volumenbelastung auf das kardiovaskuläre System und wirkt so den oben genannten Stimuli entgegen (Goetze et al. 2020).

Die Elimination von BNP erfolgt überwiegend durch enzymatische Proteolyse (z.B. mittels Nephilysin) oder durch Bindung an den natriuretischen Peptidrezeptor vom Typ C (NPR-C), welcher mitsamt BNP internalisiert und abgebaut wird (Goetze et al. 2020; Potter 2011). Ferner sind auch die Nieren an der Exkretion von BNP beteiligt. Deren Einfluss auf BNP ist jedoch geringer als der auf NT-proBNP, dessen Elimination ausschließlich renal erfolgt (Austin et al. 2006; Hall 2004; Palmer & Richards 2009).

1.2.2 Labormedizinische Aspekte

Im Vergleich zu BNP (15 bis 20 Minuten) besitzt NT-proBNP (60 bis 120 Minuten) eine längere Halbwertszeit (Cantinotti et al. 2011). Des Weiteren existiert eine Vielzahl an Immunoassays zur Messung von BNP (Cantinotti et al. 2011). Weil diese Assays verschiedene Antikörper und Kalibriermaterialien verwenden, sind sowohl die gemessene BNP-Konzentration als auch der geltende Referenzbereich stark methodenabhängig (Cantinotti et al. 2011). Studienergebnisse und Entscheidungswerte (beispielsweise zum Ausschluss einer akuten Herzinsuffizienz) sind folglich nur eingeschränkt übertragbar. Für NT-proBNP existiert dieses Problem nicht, da alle gängigen Immunoassays dieselben Antikörper und Kalibriermaterialien verwenden (Roche Diagnostics Elecsys proBNP II Assay) (Cantinotti et al. 2014).

1.2.3 Altersdynamik

Eine Besonderheit beider Biomarker stellt deren Altersabhängigkeit dar. Die bislang größte Studie zur Ermittlung von Referenzwerten für NT-proBNP im Kindesalter stammt von Nir et al. aus dem Jahr 2009 (Nir et al. 2009). Demnach steigt die 97,5. Perzentile der physiologischen NT-proBNP-Konzentration bis zum dritten Lebensstag auf über 13.000 ng/L, fällt während des ersten Lebensmonats rasch auf 1.000 ng/L ab und nähert sich bis zum Alter von 18 Jahren mit

etwa 200 ng/L den Referenzwerten Erwachsener an (Nir et al. 2009). Während im Kindesalter noch geschlechtsunabhängige Normwerte gelten, weisen Mädchen in der Adoleszenz höhere Mediane auf als gleichaltrige Jungen. Die Referenzintervallgrenzen beider Geschlechter bleiben jedoch gleich. Ab dem frühen Erwachsenenalter divergiert schließlich auch die Obergrenze in Abhängigkeit vom Geschlecht (Cantinotti et al. 2011; Fradley et al. 2011; Nir et al. 2009): Zwischen 20 und 50 Jahren liegt die 97,5. Perzentile von NT-proBNP relativ konstant bei etwa 100 ng/L (Männer) bzw. 200 ng/L (Frauen) (Fradley et al. 2011). Mit zunehmendem Alter kommt es bei beiden Geschlechtern erneut zu einem sukzessiven Anstieg der 97,5. Perzentile auf 350 bis 400 ng/L mit 60 Jahren und 600 bis 900 ng/L ab 70 Jahren (Tzikas et al. 2013).

Doch wie kommt diese ausgeprägte Dynamik im Kindesalter zustande? Von zentraler Bedeutung scheint die Anpassung des fetalen Kreislaufs und die Nierenfunktion zu sein: Bereits im heranwachsenden Fetus sind Gene hochreguliert, welche für die natriuretischen Peptide codieren (Cameron et al. 1996). Durch die abrupt zunehmende Druck- und Volumenbelastung des linken Ventrikels im Rahmen der postnatalen Adaptation können innerhalb kurzer Zeit große Mengen von BNP und NT-proBNP freigesetzt werden (Schwachtgen et al. 2005). Gleichzeitig sind die Nieren zu diesem Zeitpunkt noch unreif und eingeschränkt in ihrer Funktion (Guignard et al. 1975; Hoseini et al. 2012). Weil NT-proBNP ausschließlich renal eliminiert wird, kommt es folglich zu einer Akkumulation (Austin et al. 2006; Hall 2004). Erst mit Ausreifung der Nierenfunktion im Laufe des ersten Lebensjahres fallen die physiologischen NT-proBNP-Konzentrationen (Guignard et al. 1975; Hoseini et al. 2012). Bei BNP ist dieses Phänomen in dieser Ausprägung zu beobachten. Vermutlich liegt dies einerseits an der kürzeren Halbwertszeit von BNP (Cantinotti et al. 2011). Andererseits kann BNP postnatal uneingeschränkt eliminiert werden kann, da die enzymatische Proteolyse und rezeptorgebundene Internalisierung bereits einsatzbereit sind (Palmer & Richards 2009).

1.3 Klinischer Stellenwert von BNP/NT-proBNP

1.3.1 Erwachsenenkardiologie

Die Einsatzmöglichkeiten von BNP/NT-proBNP als Biomarker in der Erwachsenenkardiologie sind vielfältig und gut untersucht. Laut den Leitlinien der *European Society of Cardiology* (ESC) gilt die Bestimmung von BNP/NT-proBNP als Goldstandard zur Diagnostik einer Herzinsuffizienz (Empfehlungsgrad Ib) (McDonagh et al. 2021). Sowohl eine akute (oberer Grenzwert für BNP 100 ng/L bzw. 300 ng/L für NT-proBNP) als auch eine chronische Herzinsuffizienz (OG für BNP 35 ng/L bzw. 125 ng/L für NT-proBNP) können dadurch zuverlässig ausgeschlossen werden (Auerbach et al. 2010). Die Grenzwerte zum Ausschluss einer solchen gelten dabei unabhängig von Alter und Geschlecht, und weisen einen hohen negativen prädiktiven Wert (NPV) zwischen 0,94 bis 0,98 auf (Auerbach et al. 2010). Auch prognostisch werden beide Biomarker routinemäßig zur Vorhersage von Mortalität und Morbidität eingesetzt, beispielsweise bei Er-

wachsenen mit stabiler KHK (Kragelund et al. 2005; Mishra et al. 2014). NT-proBNP ist seinem aktiven Metaboliten BNP dabei leicht überlegen (Mishra et al. 2014).

Zusammenfassend besteht eine solide Evidenz für den klinischen Einsatz beider Biomarker in der Erwachsenenkardiologie (Kindel 2021; McDonagh et al. 2021). Diese basiert auf groß angelegten, randomisierten und kontrollierten Studien. Möglich ist dies, da erworbene Herzerkrankungen einerseits eine relativ homogene Gruppe darstellen und andererseits ihre Prävalenz in der Bevölkerung ausreichend hoch ist (Kindel 2021).

1.3.2 Kinderkardiologie

Im Kontrast dazu steht die Evidenz in der Kinderkardiologie. Die Studienergebnisse von Erwachsenen sind nicht übertragbar, da es sich um vollkommen verschiedene Krankheitsentitäten handelt. Im höheren Lebensalter sind atherosklerotisch und ischämisch bedingte Erkrankungen führend (arterielle Hypertonie, koronare Herzkrankheit, Myokardinfarkt). Im Kindesalter hingegen steht mit der Gruppe der angeborenen Herzfehler ein buntes Potpourri diverser struktureller Fehlbildungen im Vordergrund. Gleichzeitig ist die Prävalenz erworbener Herzerkrankungen im Erwachsenenalter bedeutend höher als im Kindesalter. Dennoch wurden verschiedene Hinweise auf vielversprechende Anwendungen bei Kindern mit angeborenen und erworbenen Herzerkrankungen gefunden.

Bei Kardiomyopathien im Kindesalter korrelieren BNP und NT-proBNP mit echokardiographischen Parametern wie der systolischen und diastolischen Funktion, Volumina und Wanddicke der Herzkammern (Cantinotti et al. 2015; Price et al. 2006). Auch bei palliierten funktionell univentrikulärem Herzen („Fontan-Patienten“) korrelieren die BNP/NT-proBNP-Spiegel mit der echokardiografisch ermittelten AV-Klappeninsuffizienz sowie systolischen und diastolischen Funktionsparametern (Cantinotti et al. 2015). Bei symptomatischen Kindern mit rechtem Systemventrikel besteht ein direkter Zusammenhang zwischen BNP und dem Schweregrad der Herzinsuffizienz (Cantinotti et al. 2015). Ähnlich wie bei Erwachsenen sind die NT-proBNP-Spiegel bei Säuglingen mit kardial bedingtem Versagen signifikant höher als bei denen mit respiratorischem Versagen (Cantinotti et al. 2015).

Eine andere Studie zeigte, dass bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern das präoperativ gemessene BNP prognostisch relevant für die Dauer einer maschinellen Beatmung, die Liegezeit auf Intensivstation, den Bedarf an Inotropika und dem Auftreten eines Low-cardiac-output-Syndroms ist (Cantinotti et al. 2015). Price et al. konnten zeigen, dass BNP bei Kindern mit dilatativer Kardiomyopathie und ventrikulärer Dysfunktion (n = 56; medianes Alter, 9,3 Jahre; IQR, 2,7-15,1 Jahre) für die Vorhersage von kardial bedingtem Tod, Hospitalisierung und Listung zur Herztransplantation geeignet ist (Price et al. 2006). Die bislang größte Studie, die sich mit der prognostischen Bedeutung beider Biomarker im Kindesalter beschäftigt, stammt von Auerbach und umfasst 138 Patienten (medianes Alter 3,4 Jahre, IQR 1,1-11,0 Jahre). Zwar konnten die Autoren für BNP einen prognostischen Wert für die Vorhersage von MACE (hier

definiert als Krankenhauseinweisung, Tod oder Transplantation aufgrund von Herzversagen) nachweisen, allerdings wurde ein einheitlicher *cutoff*-Wert festgelegt, der die altersabhängigen Referenzintervalle nicht berücksichtigt (Auerbach et al. 2010).

Zusammenfassend existieren einige Studien, die den Einsatz von BNP/NT-proBNP im Kindesalter untersuchen, jedoch umfassen diese aufgrund der oben beschriebenen Einschränkungen meistens weniger als 50 Probanden (Cantinotti et al. 2015). Erschwerend kommt hinzu, dass die untersuchten Patientenpopulationen sehr heterogen sind und sich die angewandten Messmethoden (bei BNP), einschließlich der verwendeten Referenzintervalle, stark unterscheiden (Cantinotti et al. 2015). Als Folge dessen sind die Studien untereinander nicht vergleichbar und Metaanalysen nicht sinnvoll (Cantinotti et al. 2015).

1.4 Wissenschaftliche Fragestellungen und Aufbau der Arbeit

Neben ethischen Restriktionen bei pädiatrischen Studien, einer niedrigen Prävalenz und ausgeprägten Diversität angeborener Herzfehler stellt die oben beschriebene Altersdynamik ein Kernproblem für den bislang eingeschränkten Nutzen von NT-proBNP im Kindesalter dar. Die Berücksichtigung altersabhängiger Referenzintervalle war in der Vergangenheit kaum möglich, da sie zur Aufsplitterung der ohnehin schon kleinen Patientenkollektive geführt und die Aussagekraft der Studien noch weiter eingeschränkt hätte. Auch im klinischen Alltag stellt die Altersdynamik ein gravierendes Problem dar. Absolute Konzentrationen müssen immer in Bezug auf die zugrundeliegenden altersspezifischen Referenzintervalle interpretiert werden, um pathologische Werte identifizieren zu können. Zudem müssen für unterschiedliche Altersgruppen verschiedene *cutoff*-Werte als Entscheidungsgrenzen gelten und Verlaufsbeurteilungen sind wegen der altersabhängigen Referenzintervalle praktisch nicht möglich. Die erste zentrale Frage lautet daher: Wie sollen Laborwerte im Altersverlauf verglichen werden, wenn zum Zeitpunkt der jeweiligen Messungen stark unterschiedliche Referenzintervalle gelten? Die Lösung dieses Problems bildet das Fundament zur Beantwortung der zweiten zentralen Frage: Wie valide ist NT-proBNP als prognostischer Marker zur Prädiktion von MACE bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern?

Der Aufbau der vorliegenden Arbeit folgt den zwei zugrundeliegenden Publikationen, die sich je einer der beiden oben genannten Fragestellungen widmen. In der ersten Publikation wird ein altersunabhängiger NT-proBNP-Referenzstandard definiert, um NT-proBNP-Konzentrationen zwischen verschiedenen Altersgruppen vergleichbar zu machen. Die zugrundeliegenden Referenzwerte basieren auf den Daten von Nir et al., dessen Studie die bislang größte zur Ermittlung physiologischer NT-proBNP-Konzentrationen im Kindesalter darstellt. Dieser neu eingeführte zlog-Wert von NT-proBNP (abgekürzt zlog-proBNP) gibt die Anzahl der Standardabweichungen an, um welche die gemessene NT-proBNP-Konzentration über oder unter dem altersabhängigen Mittelwert liegt. Zlog-Werte zwischen -1,96 und +1,96 befinden sich im Referenzbereich (zentrale 95% der Werte von Gesunden), niedrigere oder höhere Werte liegen außerhalb

des Referenzbereichs. Eine Unterteilung nach Alter zur Berücksichtigung unterschiedlicher Referenzintervalle ist dadurch nicht erforderlich. Die zweite Publikation widmet sich der eigentlichen Fragestellung. In einer großen pädiatrischen Kohorte wird die prognostische Aussagekraft von zlog-proBNP für das Auftreten von *major adverse cardiovascular events* evaluiert. Hierbei werden neben klinischen Parametern auch sieben weitere Biomarker auf deren prädiktiven Wert hin untersucht und mit dem von zlog-proBNP verglichen.

Im Folgenden werden zunächst die verwendeten Methoden, Ergebnisse und Diskussionen beider Publikationen separat beschrieben und diese anschließend zusammengefasst. Die beiden Originalpublikationen hängen dieser Doktorarbeit an.

2. Material und Methoden

2.1 Publikation I: Deduktion des zlog-Wertes von NT-proBNP

In einer Kohorte von 690 Kindern und Jugendlichen untersuchten Nir et al. die Referenzintervalle der physiologischen NT-proBNP-Konzentration (Nir et al. 2009). Für sieben Altersgruppen (0 bis 2 Tage, 3 bis 11 Tage, 1 Monat bis 1 Jahr, 1 bis 2 Jahre, 2 bis 6 Jahre, 6 bis 14 Jahre, 14 bis 18 Jahre) wurden der Median sowie die 5., 95. und 97,5. Perzentile, nicht jedoch die 2,5. Perzentile ermittelt. Für das Intervall von 12 bis 30 Tagen lagen keinerlei Daten vor.

Innerhalb dieser Altersgruppen ist NT-proBNP rechtsschief verteilt (Nir et al. 2009). Ein gewöhnlicher Z-Wert als Interpretationshilfe kann nicht verwendet werden, da dieser eine Normalverteilung voraussetzt (DeVore 2017). Eine Alternative bietet der zlog-Wert, ein Z-Wert-Analogon für nicht normalverteilte Daten (Hoffmann et al. 2018). Um diesen auf 95% der Gesunden zu standardisieren, müssen als symmetrische Grenzen die 97,5. und 2,5. Perzentile verwendet werden. Letztere muss dazu rechnerisch erst ermittelt werden.

2.1.1 Berechnung der 2,5. Perzentile und Funktionsverhalten

Wie von Nir et al. demonstriert, unterliegen die Referenzwerte nach Logarithmierung annähernd einer Normalverteilung (Nir et al. 2009). Das logarithmische 50. Perzentil (Median) liegt folglich mittig zwischen der gegebenen logarithmierten 5. und 95. Perzentile und kann als deren Mittelwert berechnet werden:

$$\log 50\%tile = \frac{\log 5\%tile + \log 95\%tile}{2}$$

Durch Spiegelung der logarithmierten 97,5. Perzentile (Obergrenze, OG) an der logarithmierten 50. Perzentile erhält man den Logarithmus der 2,5. Perzentile (Untergrenze, UG) für jede Altersgruppe. Dieser stellt das symmetrische Pendant zur OG dar:

$$\log 2,5\%tile = \log 50\%tile - (\log 97,5\%tile - \log 50\%tile)$$

Mit der Umkehrfunktion des dekadischen Logarithmus, der Exponentialfunktion 10^x , lassen sich die logarithmierten NT-proBNP-Referenzwerte der UG in die tatsächlichen Konzentrationen in ng/L überführen:

$$NT\text{-proBNP}_{2,5\%tile} = 10^{\log 2,5\%tile} \quad (\text{Gleichung 1})$$

Die Altersdynamik von NT-proBNP wird gegen die Hypothese einer Potenzfunktion vom Typ

$$c(t) = c_0 * t^{-a} \quad (\text{Gleichung 2})$$

getestet, wobei $c(t)$ die NT-proBNP-Konzentration in Abhängigkeit des Alters t (in Tagen) angibt. Sie basiert auf der (theoretischen) Konzentration c_0 (zum Zeitpunkt der Geburt) und dem

negativen Exponenten $-a$, der die Abnahme der NT-proBNP-Konzentration mit zunehmendem Alter charakterisiert.

Durch Logarithmieren der Gleichung 2 ergibt sich folgende lineare Funktion:

$$y = \log c_0 - a * x \quad (\text{Gleichung 3})$$

mit $y = \log c(t)$ und $x = \log t$. Diese doppellogarithmische Betrachtungsweise ermöglicht es, das altersabhängige Verhalten der physiologischen NT-proBNP-Konzentration unter der Hypothese eine Potenzfunktion (siehe Gleichung 2) anhand der linearen Beziehung zwischen $\log c(t)$ und $\log t$ zu evaluieren.

2.1.2 Regressionsanalyse

Die Logarithmen der 97,5., 50. und 2,5. Perzentile nach Nir et al. werden berechnet. Anschließend werden die obere und untere Altersgrenze jeder Gruppe logarithmiert und ihr Mittelwert zur Berechnung von $\log t$ herangezogen. In der doppellogarithmischen Darstellung liegt $\log t$ somit in der Mitte jedes Altersintervalls. Für das erste Altersintervall wird nicht Tag 0 (Geburt), sondern Tag 1 als untere Grenze verwendet, da das Maximum der physiologischen NT-proBNP-Konzentration erst in den Tagen nach der Geburt erreicht wird (Nir et al. 2009; Schwachtgen et al. 2005). Anschließend wird eine lineare Regressionsanalyse für $\log 97,5\%tile$, $\log 50\%tile$ und $\log 2,5\%tile$ in Abhängigkeit von $\log t$ durchgeführt, gewichtet nach Anzahl der Patienten laut Nir et al. (Nir et al. 2009). Unter Verwendung des berechneten Achsenabschnitts $\log c_0$ und der Steigung a für die lineare Gleichung $y = \log c_0 - a * x$ (Gleichung 3) werden kontinuierliche Referenzintervallgrenzen als Funktion des Alters abgeleitet. In einem Diagramm werden die logarithmierte 97,5. Perzentile nach Nir et al., sowie die berechnete 50. und 2,5. Perzentile mit den korrespondierenden linearen Gleichungen mit 95%-Konfidenzintervallen (95%-KI) als Funktion des logarithmierten Alters dargestellt und deren Bestimmtheitsmaß R^2 berechnet. P-Werte $< 0,05$ gelten als statistisch signifikant.

Die Umrechnung in absolute NT-proBNP-Konzentrationen erfolgt analog zu Gleichung 1 mittels der Umkehrfunktion (Exponentialfunktion zur Basis zehn, 10^x). Für verschiedene Altersstufen werden die berechnete 2,5. und 97,5. Perzentile der von Nir et al. ermittelten 97,5. Perzentile tabellarisch gegenübergestellt (Nir et al. 2009). Dadurch wird das bislang fehlende Referenzintervall von 12 bis 30 Tagen interpoliert und so auf Plausibilität überprüft.

Alle statistischen Analysen wurden mit IBM SPSS Version 24 und RStudio Version 1.2.1335 durchgeführt.

2.1.3 Deduktion einer NT-proBNP-spezifischen zlog-Formel

Aufgrund der rechtsschiefen Verteilung von NT-proBNP wird anstelle eines gewöhnlichen Z-Wertes der zlog-Wert nach Hoffmann et al. verwendet (Hoffmann et al. 2018). Für dessen Berechnung werden Ober- und Untergrenze der physiologischen Konzentration benötigt (Hoffmann et al. 2018):

$$zlog = \frac{\log \text{Messwert} - \frac{\log UG + \log OG}{2}}{\log OG - \log UG} * 3,92$$

Gleichung 4: zlog-Formel nach Hoffmann et al. (Hoffmann et al. 2018). Zur Berechnung werden Ober- (OG) und Untergrenze (UG) des Referenzintervalls benötigt.

Unter der Annahme eines linearen Zusammenhangs zwischen Ober- bzw. Untergrenze und dem Alter in der doppellogarithmischen Darstellung können die benötigte logarithmierte OG und UG (Gleichung 4) durch die zuvor abgeleiteten Geradengleichungen für Ober- bzw. Untergrenze substituiert werden. Dieser NT-proBNP-spezifische zlog-Wert (kurz zlog-proBNP) benötigt daher neben der NT-proBNP-Konzentration auch das Alter zum Zeitpunkt der Messung und setzt diese in Relation zueinander. Das Referenzintervall von zlog-proBNP wird somit standardisiert und liegt altersunabhängig zwischen -1,96 und +1,96 (DeVore 2017; Martinez-Millana et al. 2018).

2.1.4 Anwendung von zlog-proBNP anhand zweier klinischer Beispiele

Am Deutschen Herzzentrum München wird eine Datenbankabfrage durchgeführt, um alle Kinder und Jugendlichen zu identifizieren bei denen zwischen dem 1. Januar 2011 und dem 31. Dezember 2018 mindestens eine NT-proBNP-Messung durchgeführt wurde. Patienten über 18 Jahre werden ausgeschlossen. Um repetitive Messungen und damit Verzerrungen zu vermeiden, wird bei jedem Patienten nur die erste Messung innerhalb des genannten Zeitraums verwendet. Die Messwerte werden in Abhängigkeit des Alters grafisch dargestellt, einmal als absolute NT-proBNP-Konzentration und einmal als zlog-proBNP-Wert.

In einem zweiten Beispiel soll der praktische Nutzen von zlog-proBNP im zeitlichen Verlauf veranschaulicht werden. Die Datenbank wird nach Säuglingen mit möglichst vielen NT-proBNP-Messungen durchsucht und nach Durchsicht der jeweiligen Krankengeschichte ein einzelner Patient ausgewählt. Für diesen werden die echokardiografisch ermittelten Ejektionsfraktionen (EF) während der Säuglingsperiode grafisch aufbereitet, einmal mit den absoluten und einmal mit den zlog-transformierten NT-proBNP-Werten innerhalb dieses Zeitraums.

Die Blutentnahmen erfolgten bei stationären Patienten während des Krankenhausaufenthalts oder bei ambulanten Patienten am Tag der Vorstellung in Lithium-Heparin-Monovetten mittels der üblichen Entnahmetechniken. NT-proBNP wurde mit dem Roche Diagnostics Elecsys

proBNP II Assay auf einem cobas e 411 bestimmt. Der Messbereich dieses Assays reicht von 5 bis 35.000 ng/L.

2.2 Publikation II: Prädiktion von MACE mit zlog-proBNP

In der vorherigen Studie wurde mit zlog-proBNP ein altersunabhängiger NT-proBNP-Referenzstandards eingeführt. Dieser ermöglicht einen Vergleich der Messwerte zwischen verschiedenen Altersgruppen und trägt so den altersabhängigen Referenzintervallen Rechnung.

Im Folgenden soll die prognostische Aussagekraft von zlog-proBNP für das Auftreten von schwerwiegenden kardialen Ereignissen (engl. *major adverse cardiovascular events*, MACE) bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern evaluiert werden.

2.2.1 Studienpopulation

Am Deutschen Herzzentrum München, einem Spezialzentrum für Kinderkardiologie, wurde eine Datenbankabfrage durchgeführt, um retrospektiv alle Patienten mit mindestens einer NT-proBNP-Messung zwischen dem 1. Januar 2011 und dem 31. Dezember 2017 zu identifizieren. Zusätzlich wurden folgende Biomarker abgefragt: Kreatinin, C-reaktives Protein (CRP), Hämoglobin, Hämatokrit, Natrium, Kalium und Alanin-Transaminase (ALT). Alle Parameter sind Bestandteil der Blutentnahme des Aufnahmelaors.

Datensätze mit mindestens einer fehlenden Biomarkerkonzentration (z. B. aufgrund von zu wenig Probenmaterial) wurden entfernt. Als Beobachtungsbeginn wurde der früheste Zeitpunkt definiert, an dem sowohl ein vollständiger Datensatz Laborwerte als auch Patientenunterlagen vorhanden waren. Es wurden ausschließlich Patienten mit angeborenen Herzfehlern eingeschlossen, die zu Studienbeginn unter 18 Jahre alt waren. Patienten mit Fontan-Zirkulation wurden in dieser Studie ausgeschlossen.

Die Patientendaten wurden dem Krankenhausinformationssystem entnommen. Bei Studienbeginn wurden Alter, Geschlecht und Diagnosen der Patienten erfasst. Darüber hinaus wurde ermittelt, ob innerhalb von 30 Tagen vor dem individuellen Beobachtungsbeginn ein kardiovaskuläres Ereignis (MACE, siehe Endpunkte) stattgefunden hatte. Mittels dieser 30-Tage-MACE-Anamnese sollten Patienten identifiziert werden, die sich zu Studienbeginn möglicherweise in einem vulnerablen Zustand befanden (z. B. Patienten, die aufgrund einer kardialen Dekompensation oder nach einer vorangegangenen Reanimation eingewiesen wurden).

2.2.2 Endpunkte

Ein *major adverse cardiovascular event* (MACE) wurde hier wie folgt definiert: Tod (jedweder Genese), Reanimation, Notwendigkeit einer mechanischen Kreislaufunterstützung (Implantation

einer extrakorporalen Membranoxygenierung, ECMO, oder eines Herzunterstützungssystems, VAD) oder Krankenhauseinweisung wegen kardialer Dekompensation. Letzteres ist in der Pädiatrie nicht einheitlich definiert, daher wurde in dieser Studie die kardiale Dekompensation als zumindest subakute Verschlechterung echokardiographischer Funktionsparameter oder Aggravation von Herzinsuffizienzsymptomen definiert, die eine stationäre Rekompensation erforderlich machen. Jedes Ereignis, das ab dem individuellen Beobachtungsbeginn eingetreten war, wurde separat protokolliert. Bei Patienten mit MACE stellte der Zeitpunkt des (frühesten) Ereignisses das Ende des Beobachtungszeitraums dar. Andernfalls endete die Nachbeobachtung mit der letzten ambulanten Vorstellung oder der Entlassung aus dem letzten stationären Krankenhausaufenthalt.

2.2.3 Zlog-Werte, zlog-proBNP und andere Biomarker

Wie zuvor erwähnt werden zlog-Werte analog zu regulären Z-Werten interpretiert, wie sie häufig in der Pädiatrie oder Echokardiographie anzutreffen sind (Hoffmann et al. 2018; Simpson & Chubb 2017). Beide geben die Anzahl der Standardabweichungen (SD, σ) an, um die eine Variable (z. B. eine Biomarkerkonzentration) über oder unter dem Mittelwert (μ) liegt. Definitionsgemäß liegen 95% der physiologischen Werte in dem Bereich $\mu \pm 1,96 * \sigma$ (\approx Mittelwert ± 2 SD). Weil zlog-Werte Logarithmen verwenden, eignen sie sich auch für nicht normalverteilte Variablen wie NT-proBNP (Hoffmann et al. 2018).

Im Fall von zlog-proBNP handelt es sich um einen altersbereinigten NT-proBNP-spezifischen zlog-Wert, wobei Ober- und Untergrenze bzw. μ und σ als Funktion des Alters ausgedrückt werden und das zugrundeliegende Referenzintervall somit auf den Tag genau ist (Palm et al. 2020). Dies ermöglicht den Vergleich von NT-proBNP-Konzentrationen zwischen verschiedenen Altersgruppen, da die altersabhängigen Referenzintervalle auf den Bereich von $\mu \pm 1,96 * \sigma$ normiert werden (Palm et al. 2020). Um die Berechnung von zlog-proBNP im klinischen Alltag zu erleichtern, wurde ein Online-Rechner entwickelt ([hier](#) verfügbar). Mit diesem können beliebige NT-proBNP-Werte unter Angabe des Alters zu entsprechenden zlog-proBNP-Werten transformiert werden.

Weitere Faktoren, welche die NT-proBNP-Konzentration beeinflussen können, sind neben dem Alter: Infektionen (C-reaktives Protein, CRP), Anämie (Hämoglobin, Hämatokrit), Nierenfunktion (Kreatinin) und Lebererkrankungen (ALT) (Cantinotti et al. 2014). Einige der abgefragten Biomarker sind davon unabhängig prognostisch für Mortalität und Morbidität bei Erwachsenen mit angeborenen (Kreatinin, CRP) oder erworbenen Herzerkrankungen (Hämoglobin, Hämatokrit) (Dimopoulos et al. 2008; Kajimoto et al. 2016; Opotowsky et al. 2018). Bei Patienten mit Herzinsuffizienz stellen Natrium und Kalium bekannte Prädiktoren für die Sterblichkeit dar (Abebe et al. 2018; Linde et al. 2019).

Die Blutproben wurden im Rahmen des stationären Krankenhausaufenthalts oder am Tag der Vorstellung bei ambulanten Patienten mittels der üblichen Entnahmetechniken gewonnen. NT-proBNP wurde mit dem Roche Diagnostics Elecsys proBNP II Assay auf einem cobas e 411

System gemessen. Für CRP wurde ein hochsensitives, für alle anderen Biomarker herkömmliche Assays verwendet. Weitere Informationen sind in Tabelle 11 im Anhang vermerkt.

2.2.4 Statistische Auswertung

Die Patienten wurden anhand der zlog-proBNP-Werte in vier Gruppen eingeteilt: Niedrig ($\leq 1,0$), normal ($>1,0$ und $\leq 1,96$), moderat ($>1,96$ und $\leq 3,0$) und hoch ($>3,0$). Kategoriale Variablen wurden in Prozent, stetige Variablen als Median mit Interquartilsbereich (IQR) oder Spannweite angegeben. Unterschiede zwischen numerischen Variablen wurden mit dem Wilcoxon-Mann-Whitney-Test verglichen, für Kontingenztabellen wurden der exakte Test nach Fisher oder der Chi-Quadrat-Test verwendet.

Kumulative endpunktfreie Überlebenszeitkurven für die verschiedenen zlog-proBNP-Gruppen wurden nach der Kaplan-Meier-Methode abgeleitet und mit dem Log-Rank-Test verglichen. Zur Identifizierung der mit MACE-assoziierten Indikatoren wurde eine Cox-Regressionsanalyse durchgeführt, wobei zlog-proBNP sowohl als kategoriale (mit „niedrigen“ zlog-proBNP-Werten als Referenzgruppe) als auch als stetige Variable analysiert wurde. Zur Berücksichtigung der altersabhängigen Referenzintervalle wurde zlog-proBNP anstelle von NT-proBNP verwendet. Für die statistische Analyse der anderen Biomarker wurden ebenfalls entsprechende zlog-Werte berechnet, jedoch basierend auf den diskreten Referenzwerten der Hersteller (aufgelistet in Tabelle 11 im Anhang). Um die prognostische Aussagekraft von zlog-proBNP für die Vorhersage der 1-Jahres-MACE-Inzidenz und 1-Jahres-Mortalität zu bestimmen, wurde eine ROC-Analyse durchgeführt. Dieselbe Analyse wurde für zlog-proBNP in Kombination mit anderen Prädiktoren wiederholt, die in der Cox-Regressionsanalyse statistisch signifikant gewesen waren.

Um den Einfluss des Alters zu eliminieren, wurde ein paarweiser Altersabgleich durchgeführt. Dies bedeutet, dass für jeden Patienten mit MACE ein ähnlich alter Patient ohne MACE nach dem Zufallsprinzip ermittelt wurde. Anschließend wurde dieser reduzierte Datensatz wie oben beschrieben mittels der Cox-Regression analysiert. Um einen direkten Vergleich zu ermöglichen, wurden sowohl zlog-proBNP als auch die absolute NT-proBNP-Konzentration eingeschlossen und wie bereits vorher für andere Variablen adjustiert. Für den paarweisen Altersabgleich wurde ein heuristischer Optimierungsalgorithmus angewandt, der darauf abzielt, die Summe aller Altersdifferenzen jedes MACE/Nicht-MACE-Paares möglichst gering zu halten. Um nicht immer dieselben Paare zu erhalten, verwendete der Algorithmus für den Abgleich eine Zufallsauswahl, so dass bei wiederholten Durchläufen immer unterschiedliche Paare zustande kamen. Insgesamt wurde der paarweise Altersabgleich mit zugehöriger adjustierter Cox-Regressionsanalyse 1.000-mal wiederholt.

Ein p-Wert von $< 0,05$ wurde als signifikant erachtet. Die statistischen Analysen wurden mit R Version 4.0.0 durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Publikation I

3.1.1 Ableitung kontinuierlicher Referenzintervalle

Tabelle 1 zeigt die verschiedenen Altersgruppen nach Nir et al. mit der entsprechenden Anzahl an Patienten und die berechneten Mittelwerte der logarithmierten Altersunter- und -obergrenze ($\log t$). Des Weiteren sind die Logarithmen der 5. und 95. Perzentile nach Nir und die daraus berechnete logarithmierte 50. Perzentile ($\log 50\%tile$) dargestellt.

Altersintervall	n	μ des logarithmierten Altersintervalls ($\log t$)	$\log 5\%tile$	$\log 95\%tile$	Mittelwert ($\log 50\%tile$)
0 bis 2 Tage	43	0,2	2,5	4,1	3,3
3 bis 11 Tage	84	0,8	2,4	3,8	3,1
> 1 Monat bis \leq 1 Jahr	50	2,0	1,6	2,8	2,2
> 1 bis \leq 2 Jahre	38	2,7	1,6	2,6	2,1
> 2 bis \leq 6 Jahre	81	3,1	1,4	2,5	1,9
> 6 bis \leq 14 Jahre	278	3,5	1,0	2,2	1,6
> 14 bis \leq 18 Jahre	116	3,8	0,8	2,2	1,5

Tabelle 1: Altersgruppen mit der entsprechenden Patientenanzahl nach Nir et al. (Nir et al. 2009). Der Mittelwert der logarithmierten oberen und unteren Altersgrenze dient der Berechnung von $\log t$ für die jeweiligen Gruppen. Das arithmetische Mittel aus logarithmierter 5. und 95. Perzentile der NT-proBNP-Konzentration von Nir et al. liefert die logarithmierte 50. Perzentile (Nir et al. 2009).

In Tabelle 2 wird für jede Altersgruppe die logarithmierte 2,5. Perzentile ($\log 2,5\%tile$) ermittelt, indem die $\log 97,5\%tile$ an der $\log 50\%tile$ gespiegelt wird. Mit der Umkehrfunktion des dekadischen Logarithmus, der Exponentialfunktion zur Basis zehn (10^x), lassen sich $\log 2,5\%tile$, $\log 50\%tile$ und $\log 97,5\%tile$ in absolute NT-proBNP-Konzentrationen überführen.

Altersintervall	log 97,5%tile	log 50%tile	log 2,5%tile	97,5%. Perzentile (ng/L)	50%. Perzentile (ng/L)	2,5%. Perzentile (ng/L)
0 bis 2 Tage	4,1	3,3	2,5	13.222	1.962	291
3 bis 11 Tage	3,8	3,1	2,4	6.502	1.248	239
> 1 Monat bis ≤ 1 Jahr	3,0	2,2	1,4	1.000	155	24
> 1 bis ≤ 2 Jahre	2,8	2,1	1,4	675	127	24
> 2 bis ≤ 6 Jahre	2,5	1,9	1,3	327	82	20
> 6 bis ≤ 14 Jahre	2,4	1,6	0,8	242	40	6
> 14 bis ≤ 18 Jahre	2,3	1,5	0,7	207	31	5

Tabelle 2: Die logarithmierte 2,5. Perzentile ($\log 2,5\%tile$) der physiologischen NT-proBNP-Konzentration wird ermittelt, indem die logarithmierte 97,5. Perzentile ($\log 97,5\%tile$) an der berechneten logarithmierten 50. Perzentile ($\log 50\%tile$) gespiegelt wird. Die Umrechnung in absolute NT-proBNP-Konzentrationen erfolgt mittels der Umkehrfunktion, wie in Gleichung 1 exemplarisch für die 2,5. Perzentile demonstriert.

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse der gewichteten linearen Regressionsanalyse dargestellt, mittels derer die Altersabhängigkeit von NT-proBNP gegen die Hypothese eines Potenzverhaltens getestet wird. Innerhalb des 95%-Konfidenzintervalls besteht eine signifikante Korrelation zwischen der logarithmierten 2,5., 50. und 97,5. Perzentile und dem logarithmierten Alter in Tagen (alle $p < 0,001$). Die Hypothese des altersabhängigen Potenzverhaltens der physiologischen NT-proBNP-Konzentration wird beibehalten.

Abhängige Variable	Parameter	Regressionskoeffizient B	95%-Konfidenzintervall		p-Wert
			Untergrenze	Obergrenze	
$\log 2,5\%tile$	Achsenabschnitt	2,672	2,648	2,696	< 0,001
	$\log t$	-0,519	-0,527	-0,511	< 0,001
$\log 50\%tile$	Achsenabschnitt	3,417	3,404	3,430	< 0,001
	$\log t$	-0,512	-0,517	-0,508	< 0,001
$\log 97,5\%tile$	Achsenabschnitt	4,161	4,151	4,172	< 0,001
	$\log t$	-0,505	-0,509	-0,502	< 0,001

Tabelle 3: Ergebnis der gewichteten linearen Regressionsanalyse mit 95%-Konfidenzintervall (Nir et al. 2009). Die logarithmierte 2,5., 50. und 97,5. Perzentile stellen die abhängigen Variablen des logarithmierten Alters in Tagen $\log t$ dar (unabhängige Variable). Aufgrund der hohen Signifikanz ($p < 0,001$) kann von einem Potenzverhalten ausgegangen werden. Mittels der erhaltenen Regressionskoeffizienten können lineare Gleichungen für die doppellogarithmischen Darstellung aufgestellt werden.

Mittels der Regressionskoeffizienten können Funktionen für die logarithmierte Unter-, Obergrenze und den Median aufgestellt werden:

1. Logarithmierte Untergrenze (2,5. Perzentile): $y = 2,672 - 0,519 * x$

2. Logarithmierter Median (50. Perzentile): $y = 3,417 - 0,512 * x$

3. Logarithmierte Obergrenze (97,5. Perzentile): $y = 4,161 - 0,505 * x$,

mit $y = \log c(t)$ und $x = \log t$. Die Gleichungen beschreiben somit die Abhängigkeit der logarithmierten NT-proBNP-Konzentration (in ng/L) vom logarithmierten Alter (in Tagen).

Abbildung 1 zeigt die so in der doppellogarithmischen Darstellung entstehenden linearen Funktionen. Das Bestimmtheitsmaß beträgt $R^2 = 0,992$ für die 97,5.-Perzentile, $R^2 = 0,988$ für den Median und $R^2 = 0,960$ für die 2,5.-Perzentile.

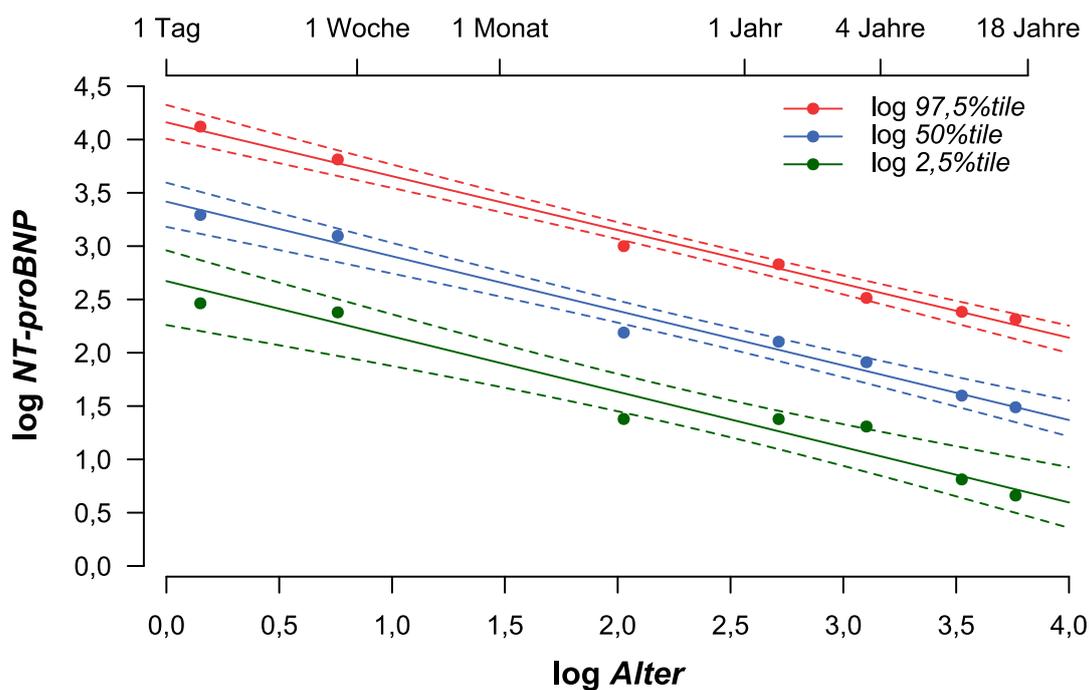


Abbildung 1: Doppellogarithmische Darstellung der 97,5. (Obergrenze), 50. (Median) und 2,5. Perzentile (Untergrenze) der physiologischen NT-proBNP-Konzentration als Funktion des Alters (in Tagen). Die Punkte stellen die entsprechenden Perzentilen innerhalb einer Altersgruppe dar (Tabelle 1 und 2). Abgebildet sind außerdem die zugehörigen Funktionen (durchgezogene Linien) mit 95%-KI (gestrichelte Linien). Das Bestimmtheitsmaß beträgt $R^2 = 0,992$ für die Obergrenze, $R^2 = 0,988$ für den Median und $R^2 = 0,960$ für die Untergrenze.

Zur Umrechnung in absolute NT-proBNP-Konzentrationen werden die Formeln mit $y = \log c(t)$ und $x = \log t$ substituiert und zur Basis zehn potenziert. Daraus ergeben sich die folgenden Gleichungen:

$$\text{Untergrenze: } c_{2,5\%tile} = 469,9 * t^{-0,519}$$

$$\text{Median: } c_{50\%tile} = 2612,2 * t^{-0,512}$$

$$\text{Obergrenze: } c_{97,5\%tile} = 14487,7 * t^{-0,505}$$

Innerhalb des statistischen Fehlers verhält sich die NT-proBNP-Konzentration annähernd invers zur Quadratwurzel des Alters:

$$c_{\text{NT-proBNP}} \sim t^{-0,5} = \frac{1}{\sqrt{t}}$$

Mittels der genannten Formeln können Ober- und Untergrenze der physiologischen NT-proBNP-Konzentration tagesgenau ermittelt werden. In Tabelle 4 werden diese für verschiedene Altersstufen berechnet und den ursprünglichen Daten von Nir et al. gegenübergestellt (Nir et al. 2009).

Alter	Berechnete RI		Nir et al.	Altersgruppe
	2,5%. Perzentile	97,5%. Perzentile	97,5%. Perzentile	
Geburt	-	-		
1 Tag	470	14.488	13.222	0 - 2 Tage
2 Tage	328	10.209		
3 Tage	266	8.319		
5 Tage	204	6.427		
7 Tage	171	5.423	6.502	3 - 11 Tage
9 Tage	150	4.776		
11 Tage	135	4.316		
12 Tage	129	4.131		
18 Tage	105	3.366	-	12 Tage bis ≤ 1 Monat
24 Tage	90	2.911		
1 Monat	80	2.600		
2 Monate	56	1.817		
4 Monate	39	1.281	1.000	> 1 Monat bis ≤ 1 Jahre
8 Monate	27	902		
1 Jahr	22	736		
1¼ Jahre	20	657		
1½ Jahre	18	600	675	> 1 bis ≤ 2 Jahre
1¾ Jahre	16	555		
2 Jahre	15	518		
3 Jahre	12	423		
4 Jahre	11	365		
5 Jahre	10	327	327	> 2 bis ≤ 6 Jahre
6 Jahre	9	298		
8 Jahre	7	258		
10 Jahre	7	230	242	> 6 bis ≤ 14 Jahre
12 Jahre	6	210		
14 Jahre	6	194		
15 Jahre	5	187		
16 Jahre	5	181		
17 Jahre	5	176	207	> 14 bis ≤ 18 Jahre
18 Jahre	5	171		

Tabelle 4: Referenzintervalle von NT-proBNP [ng/L] mit Ober- (97,5. Perzentile) und Untergrenze (2,5. Perzentile) für verschiedene Altersgruppen. Die mittels der kontinuierlichen RI-Gleichungen berechneten Grenzwerte für diskrete Altersgruppen werden mit den ursprünglichen diskreten Altersgruppen von Nir et al. verglichen (Nir et al. 2009). Bei diesen fehlt das 2,5. Perzentil vollständig und für das Alter von 12 bis 30 Tagen sind keine Daten verfügbar (Nir et al. 2009).

3.1.2 Deduktion eines NT-proBNP-spezifischen zlog-Wertes

Die neu gewonnene Erkenntnis über das altersabhängige Potenzverhalten wird zur Berechnung der Ober- und Untergrenze der physiologischen NT-proBNP-Konzentrationen verwendet:

$$\log \text{UG} = \log 2,5\%tile = 2,672 - 0,519 * \log t \quad (\text{Gleichung 5})$$

$$\log \text{OG} = \log 97,5\%tile = 4,161 - 0,505 * \log t \quad (\text{Gleichung 6})$$

mit t = Alter in Tagen. Die Gleichungen können direkt in die zlog-Formel nach Hoffmann et al. eingesetzt werden (Hoffmann et al. 2018). Nach Vereinfachung erhält man eine NT-proBNP-spezifische zlog-Formel (kurz zlog-proBNP):

$$zlog_{\text{NT-proBNP}} = \frac{\log x + 0,512 * \log t - 3,417}{1,489 + 0,014 * \log t} * 3,92 \quad (\text{Gleichung 7})$$

Zur Berechnung von zlog-proBNP werden nur die gemessene NT-proBNP-Konzentration x in ng/L und das Alter t in Tagen benötigt.

3.1.3 Klinische Beispiele

Über das Krankenhaus- und Laborinformationssystem (Medico, Cerner Corporation und Swisslab, Nexus AG) wurden 2.159 Patienten mit mindestens einer NT-proBNP-Messung identifiziert. Nach Ausschluss von 39 Patienten wegen unvollständiger Daten verblieben 2.120 Probanden, von denen die meisten an einer angeborenen oder erworbenen Herzerkrankung litten. Die NT-proBNP-Konzentration innerhalb des Kollektivs reichte von 5 bis 35.000 ng/L und die zugehörigen zlog-Werte von -2,2 bis +6,9. Das Alter lag zwischen 0 Tagen und 18 Jahren (6.569 Tage). Die Abbildungen 2 und 3 zeigen die absoluten NT-proBNP-Konzentrationen bzw. die entsprechenden zlog-proBNP-Werte (berechnet mit Gleichung 7) in Abhängigkeit vom Alter der Patienten.

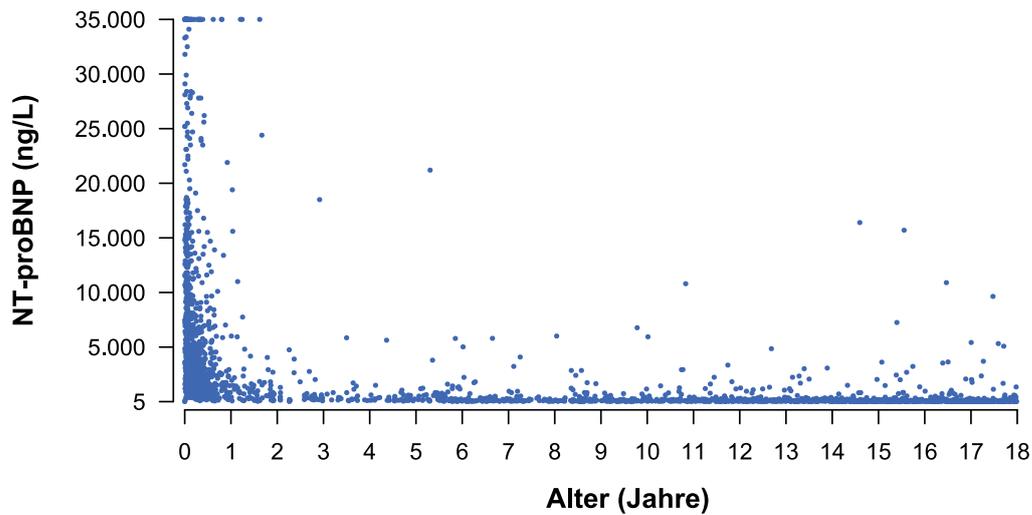


Abbildung 2: Absolute NT-proBNP-Werte von 2.120 überwiegend herzkranken Kindern und Jugendlichen. Auch in diesem Kollektiv ist klar ein nichtlinearer Verlauf der absoluten Konzentrationen zu erkennen und steht daher im Einklang mit den Ergebnissen dieser Arbeit.

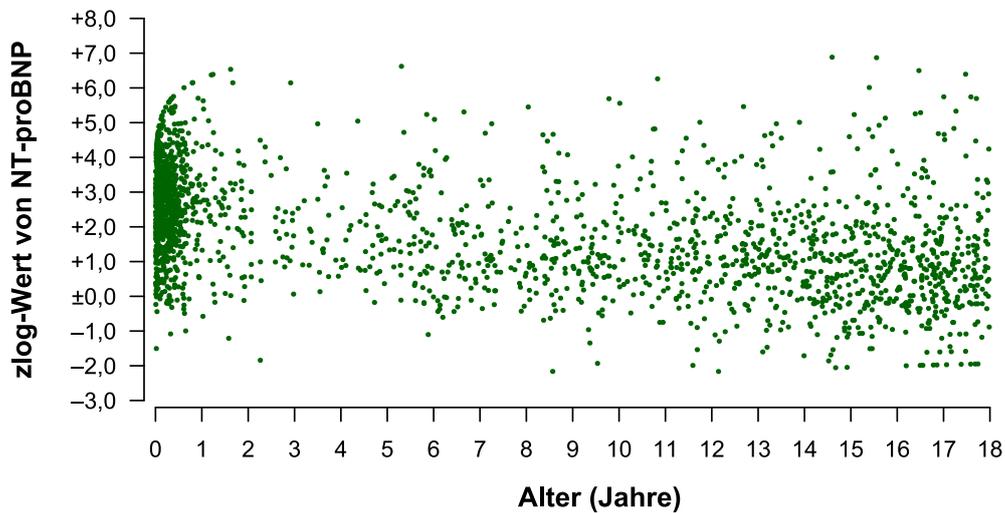


Abbildung 3: Dargestellt sind die transformierten zlog-proBNP-Werte aus Abbildung 2, berechnet mit der NT-proBNP-spezifischen zlog-Formel (Gleichung 7). Die überwiegende Mehrheit dieser Patienten litt an einer angeborenen oder erworbenen Herzkrankheit. Daher ist es nicht verwunderlich, dass viele Patienten erhöhte zlog-Werte (größer +1,96) aufwiesen. Die leichte Abnahme der zlog-Werte nach der Säuglingsperiode lässt sich durch das Überwiegen schwerer Herzfehler in jungen Jahren erklären. Mit zunehmendem Alter steigt der Anteil der Patienten mit korrigierten und weniger schweren Vitien.

Die für das zweite Beispiel ausgewählte einzelne Patientin war weiblich und hatte als zugrundeliegende Erkrankung eine dilatative Kardiomyopathie. Der Beobachtungszeitraum umfasste das erste Lebensjahr, in dem sich die Patientin drei Mal in stationärer Behandlung befand. Während dieses Zeitraums konnten insgesamt 66 NT-proBNP-Messungen und sieben echokardiographische Befunde mit einer gemessenen EF erhoben werden. Median und Interquartilsbereich (IQR) der absoluten NT-proBNP-Konzentrationen bzw. die entsprechenden zlog-proBNP-Werte lauteten wie folgt:

1. Krankenhausaufenthalt: 9.995 ng/L (IQR 8.013–12.500 ng/L) bzw. 3,5 (IQR 3,3–4,0)
2. Krankenhausaufenthalt: 8790 ng/L (IQR 7.700–12.100 ng/L) bzw. 4,2 (IQR 4,1–4,6)
3. Krankenhausaufenthalt: 13.300 ng/L (IQR 10.115–13.700 ng/L) bzw. 5,1 (IQR 4,8–5,2)

Die vorhandenen Messwerte sind in den Abbildungen 4 (absolute NT-proBNP-Konzentration) und 5 (zlog-proBNP-Werte) dargestellt. Beide Diagramme enthalten außerdem die echokardiographisch ermittelte Ejektionsfraktion. Zu Beginn lag diese bei 60% (normale Pumpfunktion) und fiel während des ersten Lebensjahres auf 20% ab (hochgradig eingeschränkte Pumpfunktion). Die Patientin wurde aufgrund der rasch progredienten Herzinsuffizienz im Alter von 11 Monaten zur Herztransplantation gelistet.

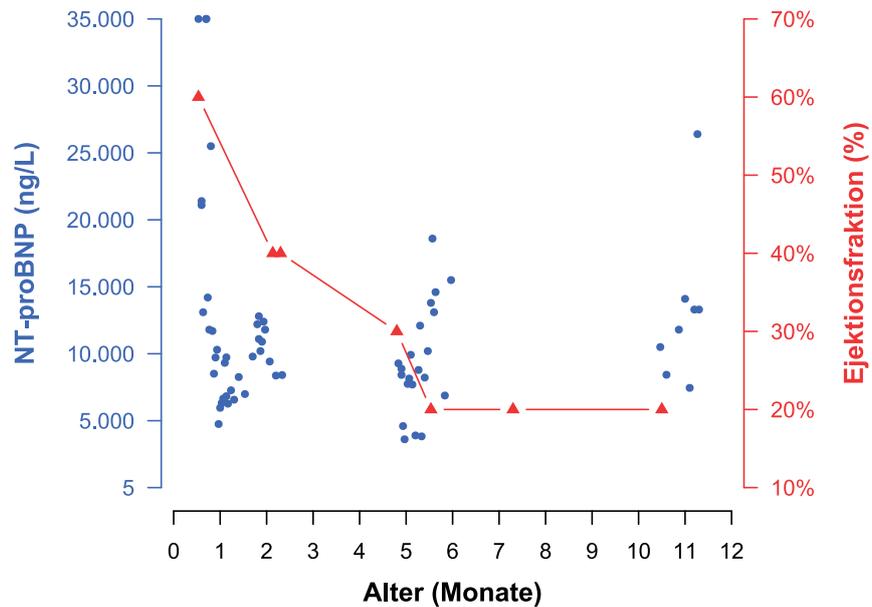


Abbildung 4: Verlauf der absoluten NT-proBNP-Konzentration und Ejektionsfraktion (EF) bei einem weiblichen Säugling mit dilatativer Kardiomyopathie während des ersten Lebensjahres. Im Alter von 11 Monaten wurde eine Listung zur Herztransplantation initiiert. Obwohl es zu einer signifikanten Abnahme der EF (Verschlechterung der kardialen Pumpfunktion) kommt, scheint die absolute NT-proBNP-Konzentration konstant zu bleiben bzw. sogar leicht abzunehmen, ohne dass eine Korrelation mit der EF besteht.

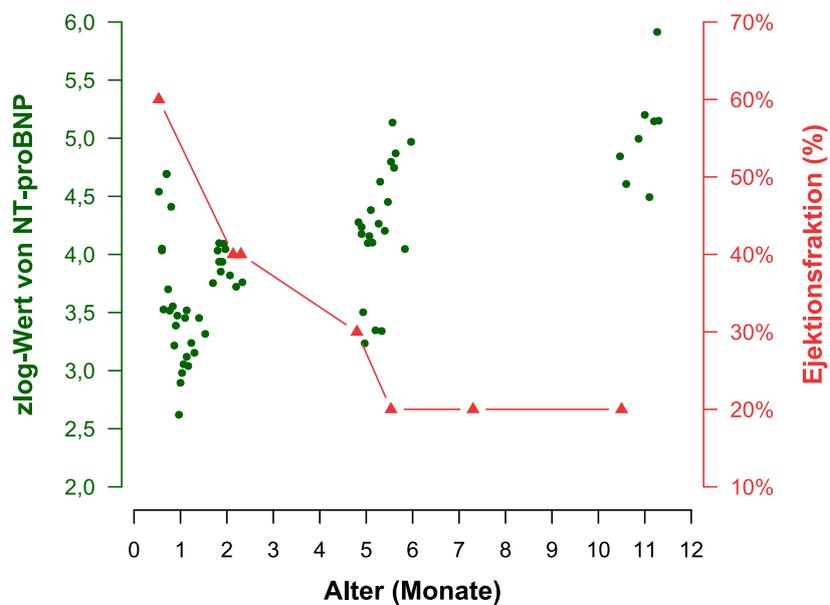


Abbildung 5: Verlauf der entsprechenden zlog-proBNP-Werte und der EF bei dem Säugling mit dilatativer Kardiomyopathie aus Abbildung 4. Verglichen mit den Absolutwerten spiegeln die zlog-transformierten NT-proBNP-Werte eindeutig die Verschlechterung der Pumpfunktion wider.

3.2 Publikation II

3.2.1 Basischarakteristika

Von 1.420 Patienten mit mindestens einem vollständigen Labordatensatz erfüllten 910 Kinder mit angeborenen Herzfehlern die Einschlusskriterien (Abbildung 6). In Tabelle 5 sind deren Basischarakteristika dargestellt. 27% der Patienten waren Neugeborene (Geburt bis ≤ 28 Tage), 32% Säuglinge (> 28 Tage bis ≤ 1 Jahr), 18% Kinder (> 1 bis ≤ 10 Jahre) und 23% Jugendliche (> 10 Jahre bis zum 18. Geburtstag). Das mediane Alter lag bei 5 Monaten (Mittelwert 4,5 Jahre, Spannweite 0,0–18,0 Jahre) und 56% der Patienten waren männlich. Da das Deutsche Herzzentrum München ein Spezialzentrum für Kinderkardiologie ist, waren komplexe Herzfehler wie das hypoplastische Linksherzsyndrom, Trikuspidal- oder Pulmonalatresien überdurchschnittlich häufig anzutreffen. Während es sich normalerweise bei ca. 2,8% aller angeborenen Herzfehler um univentrikuläre Herzen handelt, waren diese Patienten in der untersuchten Kohorte mit 19,5% ($n = 177$) deutlich überrepräsentiert (Lindinger, Schwedler und Hense 2010). Auch andere komplexe Vitien waren deutlich häufiger anzutreffen. Beide Tatsachen gingen mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten von MACE einher. Die zugrundeliegenden Diagnosen des untersuchten Patientenkollektivs sind in Tabelle 6 aufgeführt. Auf eine separate Analyse nach Diagnosen wurde in dieser Arbeit bewusst verzichtet, weil dies den Rahmen einer einzigen Publikation sprengen würde. Weitere Basischarakteristika sind in Tabelle 5 aufgeführt.

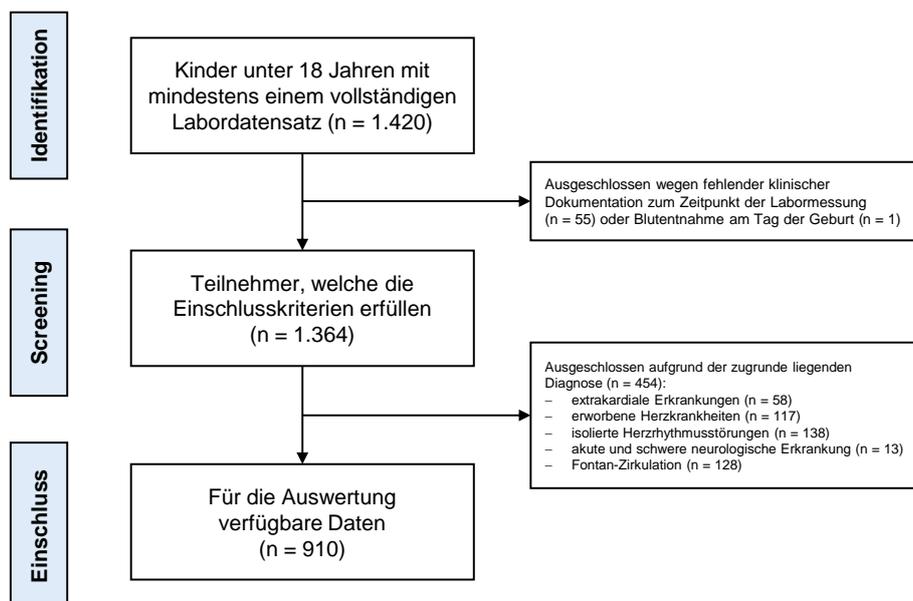


Abbildung 6: Flussdiagramm der Patientenauswahl. Am Deutschen Herzzentrum München wurde eine Datenbankabfrage durchgeführt, um alle Patienten unter 18 Jahren zu identifizieren, die sowohl einen angeborenen Herzfehler als auch mindestens eine NT-proBNP-Messung zwischen 2011 und 2017 hatten. Nach Berücksichtigung der Ausschlusskriterien verblieben 910 Probanden für die statistische Analyse.

Parameter	Alle Patienten (n = 910)	zlog-proBNP				p-Wert *
		Niedrig (n = 180)	Normal (n = 186)	Moderat (n = 230)	Hoch (n = 314)	
Bereich von zlog-proBNP	-2,2 bis +6,9	-2,2 bis +1,0	+1,0 bis +1,96	+1,96 bis +3,0	+3,0 bis +6,9	< 0,001
Alter — Jahre						
Median (IQR)	0,4 (0,1–8,8)	10,8 (5,1–14,9)	5,4 (0,3–13,2)	0,2 (0,1–1,8)	0,1 (0,0–0,5)	
Spannweite	0,0–18,0	0,0–18,0	0,0–17,9	0,0–17,8	0,0–17,5	
Altersgruppe — Anzahl (%)						< 0,001
Neugeborene (Geburt bis 4 Wochen)	242 (27%)	14 (8%)	29 (16%)	73 (32%)	126 (40%)	
Säuglinge (4 Wochen bis 1 Jahr)	291 (32%)	16 (9%)	46 (25%)	95 (41%)	134 (43%)	
Kinder (1 bis 10 Jahre)	165 (18%)	56 (31%)	39 (21%)	38 (17%)	32 (10%)	
Jugendliche (10 bis 18 Jahre)	212 (23%)	94 (52%)	72 (39%)	24 (10%)	22 (7%)	
Geschlecht — Anzahl (%)						0,28
Männlich	509 (56%)	100 (56%)	113 (61%)	116 (50%)	180 (57%)	
Weiblich	401 (44%)	80 (44%)	73 (39%)	114 (50%)	134 (43%)	
MACE-Anamnese † — Anzahl (%)						< 0,001
Positiv	61 (7%)	2 (1%)	2 (1%)	21 (9%)	36 (11%)	
Negativ	849 (93%)	178 (99%)	184 (99%)	209 (91%)	278 (89%)	
Labornwerte — Median (IQR)						
Hämoglobin (g/dL)	13,3 (12,1–14,8)	13,7 (12,6–15,1)	13,5 (12,4–14,6)	13,2 (11,8–14,6)	13,0 (11,6–14,6)	< 0,001
Hämatokrit (%)	38,6 (35,1–42,2)	39,4 (36,5–43,2)	38,8 (36,1–42,0)	38,1 (34,1–41,7)	38,1 (33,6–42,0)	< 0,001
Natrium (mmol/L)	138 (136–141)	139 (137–141)	139 (136–140)	138 (135–141)	137 (134–140)	0,023
Kalium (mmol/L)	4,2 (3,9–4,7)	4,1 (3,9–4,3)	4,1 (3,9–4,6)	4,3 (4,0–4,8)	4,4 (4,0–4,9)	< 0,001
Kreatinin (mg/dL)	0,5 (0,3–0,6)	0,6 (0,4–0,8)	0,5 (0,3–0,7)	0,4 (0,3–0,5)	0,4 (0,3–0,6)	< 0,001
ALT (U/L)	21 (15–31)	18 (14–21)	20 (15–27)	22 (15–33)	24 (17–43)	< 0,001
CRP (mg/L)	2,1 (0,6–15,9)	0,6 (0,6–1,7)	0,8 (0,6–3,4)	6,6 (0,7–25,2)	8,9 (1,1–30,7)	< 0,001
NT-proBNP (ng/L)	1.910 (172–8.483)	62 (34–98)	214 (130–977)	2.700 (955–5.340)	11.550 (5.945–24.100)	< 0,001
Ereignisse — Anzahl (%)						
≥ 1 MACE	138 (15%)	1 (1%)	12 (6%)	32 (14%)	93 (30%)	
davon verstorben	55	0	3	8	44	
Kein Ereignis	772 (85%)	179 (99%)	174 (94%)	198 (86%)	221 (70%)	

Tabelle 5: Basischarakteristika der Studienpopulation. Legende: * Die zugehörigen p-Werte beziehen sich auf den Unterschied zwischen physiologischen (niedrigen und normalen) und pathologischen (moderaten und hohen) zlog-proBNP-Werten. † Patienten mit mindestens einem MACE innerhalb von 30 Tagen vor dem individuellen Beobachtungsbeginn.

Hauptdiagnose	Anzahl der Patienten (%)
Aortenisthmusstenose (ISTA)	62 (6,8%)
Aortenklappenerkrankungen	49 (5,4%)
Aortopulmonales Fenster (APW)	2 (0,2%)
Atrioventrikulärer Septumdefekt (AVSD)	
Partieller AV-Septumdefekt (PAVSD)	5 (0,5%)
Kompletter AV-Septumdefekt (CAVSD)	63 (6,9%)
Bland-White-Garland-Syndrom (ALCAPA)	12 (1,3%)
Double inlet left ventricle (DILV)	15 (1,6%)
Double outlet right ventricle (DORV)	52 (5,7%)
Ebstein-Anomalie	12 (1,3%)
Fallot'sche Tetralogie (TOF)	86 (9,5%)
Hypoplastisches Linksherz (HLH)	93 (10,2%)
Lungenvenenfehlmündung	
Partielle Lungenvenenfehlmündung	7 (0,8%)
Totale Lungenvenenfehlmündung	7 (0,8%)
Mitralklappenerkrankungen	7 (0,8%)
Persistierender Ductus arteriosus (PDA)	26 (2,9%)
Pulmonalatresie (PA)	
Pulmonalatresie mit intaktem Ventrikelseptum (PA-IVS)	22 (2,4%)
Pulmonalatresie mit Ventrikelseptumdefekt (PA-VSD)	55 (6,0%)
Pulmonalklappenerkrankung	27 (3,0%)
Shone-Komplex	13 (1,4%)
Transposition der großen Gefäße	
Transposition der großen Arterien (d-TGA)	58 (6,4%)
Kongenital korrigierte Transposition der großen Arterien (ccTGA)	13 (1,4%)
Trikuspidalatresie	14 (1,5%)
Trikuspidalklappenerkrankungen	5 (0,5%)
Truncus arteriosus communis (TAC)	25 (2,7%)
Unterbrochener Aortenbogen (IAA)	6 (0,7%)
Ventrikelseptumdefekt (VSD)	61 (6,7%)
Vorhofseptumdefekt (ASD)	61 (6,7%)
<i>Weitere</i>	
Komplexe Fehlbildungen	37 (4,1%)
Andere Defekte	15 (1,6%)

Tabelle 6: Zugrundeliegende Diagnosen des untersuchten Studienkollektivs. Wie aus der Tabelle hervorgeht, stellen kinder-kardiologische Patienten – im Gegensatz zu den recht homogenen Krankheitsentitäten in der Erwachsenen-kardiologie – ein äußerst heterogenes Kollektiv dar.

3.2.2 Nachbeobachtung und Auftreten von MACE

Die mediane Beobachtungszeit betrug 6 Monate (Spannweite 1 Tag bis 7,6 Jahre). Insgesamt wurden 138 Patienten (15%) mit MACE identifiziert. Dabei handelte es sich in 50,0% der Fälle um Reanimationen (n = 69, davon 62 primär erfolgreich und 7 letal), in 25,4% um ECMO-Implantationen (n = 35, davon 12 unter Reanimation), in 17,4% um Krankenhauseinweisungen wegen kardialer Dekompensation (n = 24) und in 7,2% um primäre Todesfälle (n = 10). Die mediane Zeit von Beobachtungsbeginn bis zum Auftreten von MACE betrug 20 Tage (IQR 2 bis 117 Tage). Die Mehrheit der Ereignisse trat innerhalb des ersten Lebensjahres auf (84,8% der Fälle). Ähnliche Beobachtungen wurden hinsichtlich der Sterblichkeit gemacht: Während des gesamten Beobachtungszeitraums starben 55 Patienten (6,0% der Patienten), wobei sich die meisten Todesfälle (85,5%) innerhalb des ersten Lebensjahres ereigneten.

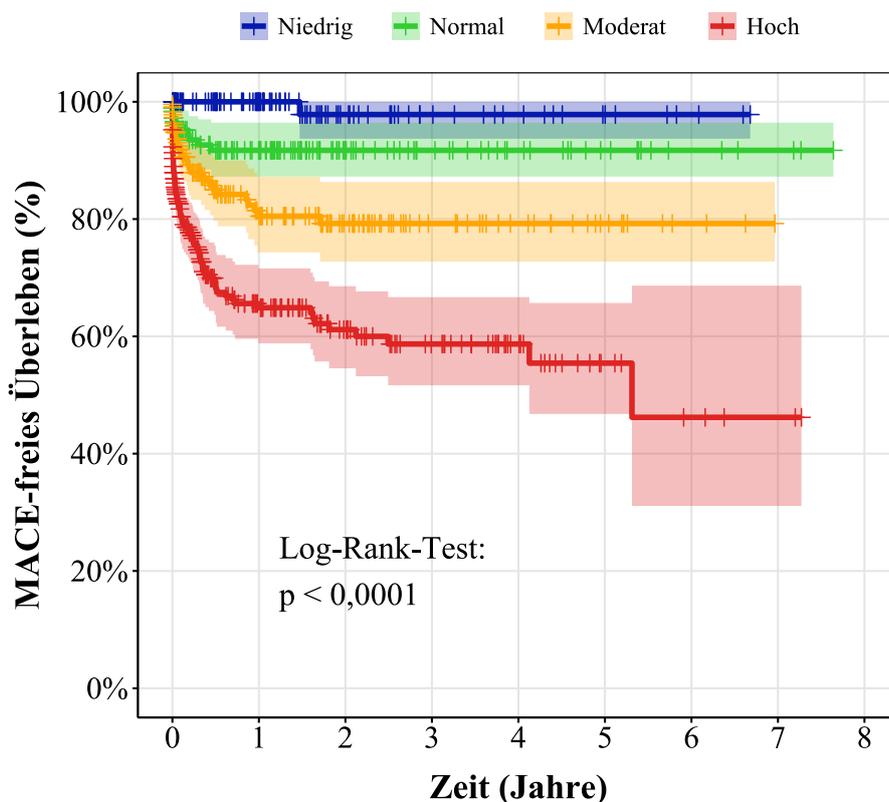
Patienten mit MACE wiesen signifikant höhere zlog-proBNP-Werte auf (Median 3,6; IQR 2,7–4,1; p < 0,001) als solche ohne Ereignis (Median 2,2; IQR 1,1–3,2) und hatten häufiger eine positive 30-Tage-MACE-Anamnese (18% gegenüber 5%). Weitere Charakteristika beider Gruppen sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Parameter	Patienten			p-Wert *
	Alle Patienten (n = 910)	ohne MACE (n = 772)	mit MACE (n = 138)	
zlog-proBNP — Median (IQR)	2,4 (1,3–3,5)	2,2 (1,1–3,2)	3,6 (2,7–4,1)	< 0,001
Alter — Jahre				< 0,001
Median (IQR)	0,4 (0,1–8,8)	0,6 (0,1–10,5)	0,1 (0,0–0,2)	
Spannweite	0,0–18,0	0,0–18,0	0,0–17,7	
Altersgruppe — Anzahl (%)				< 0,001
Neugeborene (Geburt bis 4 Wochen)	242 (27%)	172 (22%)	70 (51%)	
Säuglinge (4 Wochen bis 1 Jahr)	291 (32%)	237 (31%)	54 (39%)	
Kinder (1 bis 10 Jahre)	165 (18%)	157 (20%)	8 (6%)	
Jugendliche (10 bis 18 Jahre)	212 (23%)	206 (27%)	6 (4%)	
Geschlecht — Anzahl (%)				0,93
Männlich	509 (56%)	431 (56%)	78 (57%)	
Weiblich	401 (44%)	341 (44%)	60 (43%)	
MACE-Anamnese † — Anzahl (%)				< 0,001
Positiv	61 (7%)	36 (5%)	25 (18%)	
Negativ	849 (93%)	736 (95%)	113 (82%)	
Laborwerte — Median (IQR)				
Hämoglobin (g/dL)	13,3 (12,1–14,8)	13,3 (12,1–14,8)	13,6 (12,1–14,9)	0,002
Hämatokrit (%)	38,6 (35,1–42,2)	38,4 (35,1–42,1)	38,9 (35,3–43,0)	0,72
Natrium (mmol/L)	138 (136–141)	138 (136–140)	137 (134–142)	0,69
Kalium (mmol/L)	4,2 (3,9–4,7)	4,2 (3,9–4,7)	4,5 (4,1–4,9)	0,034
Kreatinin (mg/dL)	0,5 (0,3–0,6)	0,5 (0,3–0,6)	0,5 (0,3–0,7)	< 0,001
ALT (U/L)	21 (15–31)	20 (15–29)	23 (17–43)	0,03
CRP (mg/L)	2,1 (0,6–15,9)	1,7 (0,6–12,7)	6,8 (1,2–30,9)	< 0,001
NT-proBNP (ng/L)	1.910 (172–8.483)	1.130 (133–6.073)	10.950 (4.723–26.825)	< 0,001

Tabelle 7: Vergleich der Basischarakteristika von Patienten mit und ohne MACE. Legende: * Für die statistische Analyse wurden die Biomarker in zlog-Werte umgewandelt, wobei die vom Hersteller angegebenen altersabhängigen Referenzintervalle zugrunde gelegt wurden. † Patienten mit mindestens einem MACE innerhalb von 30 Tage vor dem individuellen Studienbeginn.

3.2.3 Prognostische Wertigkeit von zlog-proBNP

Abbildung 7 zeigt die Kaplan-Meier-Überlebenskurven mit den zugehörigen 95%-Konfidenzintervallen für die verschiedenen zlog-proBNP-Gruppen. Der Log-Rank-Test ergab einen p-Wert von < 0,001.



Patienten unter Risiko

Niedrig	180	64	30	17	12	7	3	0	0
Normal	186	82	40	27	18	11	5	3	0
Moderat	230	85	52	26	17	9	3	0	0
Hoch	314	92	57	38	21	8	4	2	0

Abbildung 7: Kaplan-Meier-Kurven für verschiedene zlog-proBNP-Werte. Die Patienten wurden anhand der zlog-proBNP-Werte in die Gruppen niedrig ($\leq 1,0$), normal ($> 1,0$ und $\leq 1,96$), moderat ($> 1,96$ und $\leq 3,0$) und hoch ($> 3,0$) eingeteilt. Für diese Gruppen wurden Kaplan-Meier-Kurven für das MACE-freie Überleben mit 95%-KI abgeleitet. Der Log-Rank-Test ergab einen p-Wert von < 0,001.

Überlebenszeitanalyse	zlog-proBNP				p-Wert *
	Niedrig (n = 180)	Normal (n = 186)	Moderat (n = 230)	Hoch (n = 314)	
MACE					
Patienten mit ≥ 1 Ereignis — Anzahl (%)	1	12	32	93	
Summe aller Ereignisse innerhalb der Gruppe	1	16	43	163	
Personenjahre †	181	242	261	302	
1-Jahres-MACE-Inzidenz ‡	0,0%	8,3%	19,5%	35,1%	
Hazard Ratio (95%-KI)	Referenzgruppe	10,3 (1,3–79,0)	22,8 (3,1–167,0)	54,2 (7,6–388,8)	< 0,001
Adjustierte HR (95%-KI)	Referenzgruppe	8,5 (1,1–65,9)	10,3 (1,4–76,4)	21,1 (2,9–154,2)	< 0,001
Tod (jedweder Genese)					
Todesfälle — Anzahl (%)	0	3	8	44	
Personenjahre †	248	317	261	281	
1-Jahres-Überlebensrate ‡	100%	97,9%	95,8%	82,7%	
Hazard Ratio (95%-KI)	Referenzgruppe §	Referenzgruppe §	3,9 (1,0–14,5)	16,0 (5,0–51,6)	< 0,001
Adjustierte HR (95%-KI)	Referenzgruppe §	Referenzgruppe §	1,5 (0,4–5,9)	6,1 (1,8–20,6)	0,027

Tabella 8: Risiko für das Auftreten von MACE und Tod nach zlog-proBNP-Gruppen. Legende: * Die jeweiligen p-Werte beziehen sich auf den Unterschied zwischen physiologischen (niedrigen und normalen) und pathologischen (mittleren und hohen) zlog-proBNP-Werten. † Summe des Gesamtbeobachtungszeitraums bis zum ersten Ereignis (in Jahren). ‡ Berechnet nach der Kaplan-Meier-Methode. § Da keine Patienten mit niedrigen zlog-proBNP-Werten während der Nachbeobachtungszeit verstarben, wurden diese Probanden mit der "normalen" Gruppe zusammengelegt.

Der Kaplan-Meier-Schätzer für das Auftreten von MACE nach einem Jahr betrug 0,0% für Kinder mit niedrigen ($\leq 1,0$), 8,3% für Kinder mit normalen ($>1,0$ und $\leq 1,96$), 19,5% für Kinder mit moderaten ($>1,96$ und $\leq 3,0$) und 35,1% für Kinder mit hohen ($>3,0$) zlog-proBNP-Werten. Ähnliche Ergebnisse wurden hinsichtlich der Sterblichkeit beobachtet: 94,5% aller Todesfälle traten bei Kindern mit moderaten oder hohen zlog-proBNP-Werten auf, während sich in der Gruppe mit niedrigen Werten keine Todesfälle ereigneten. Die Kaplan-Meier-Schätzer für die Gesamtüberlebensrate nach einem Jahr betrug 100% bei Patienten mit niedrigen und 82,7% bei denen mit hohen zlog-proBNP-Werten. Weitere Ergebnisse sind in Tabelle 8 dargestellt.

In der Cox-Regressionsanalyse war zlog-proBNP sowohl mit MACE als auch der Mortalität assoziiert, unabhängig davon, ob es als kategoriale (Tabelle 8) oder stetige Variable (Tabelle 9) analysiert wurde. Auch nach Adjustierung für andere Einflussgrößen blieb zlog-proBNP signifikant prädiktiv für die Mortalität und das Auftreten von MACE. Die Hazard Ratios (HR) aller Basischarakteristika sind in Tabelle 9 dargestellt.

Parameter	MACE		Tod	
	Hazard Ratio (95%-KI)	p-Wert	Hazard Ratio (95%-KI)	p-Wert
zlog-proBNP	1,52 (1,31–1,76) *	< 0,001	1,84 (1,42–2,39) *	< 0,001
Alter — Tage (logarithmisch)	0,47 (0,38–0,60) *	< 0,001	0,36 (0,23–0,56) *	< 0,001
Geschlecht				
Männlich	Referenzgruppe		Referenzgruppe	
Weiblich	0,96 (0,69–1,35) †	0,83	0,90 (0,52–1,53) †	0,69
MACE-Anamnese ‡				
Negativ	Referenzgruppe		Referenzgruppe	
Positiv	2,29 (1,45–3,60) *	< 0,001	3,66 (1,89–7,09) *	< 0,001
Laborwerte (zlog-transformiert)				
Hämoglobin	1,06 (0,96–1,17) *	0,22	1,10 (0,94–1,29) *	0,24
Hämatokrit	0,95 (0,89–1,03) †	0,21	1,02 (0,91–1,14) †	0,78
Natrium	1,12 (0,98–1,29) †	0,10	1,17 (0,96–1,44) *	0,13
Kalium	1,05 (0,92–1,20) †	0,47	1,16 (0,94–1,42) †	0,16
Kreatinin	1,12 (1,03–1,22) *	0,01	1,09 (0,95–1,24) *	0,22
ALT	1,09 (0,89–1,34) *	0,38	1,24 (0,91–1,69) *	0,18
CRP	1,00 (0,90–1,10) *	0,93	0,93 (0,78–1,10) *	0,40

Tabelle 9: Hazard Ratios für MACE und Mortalität. Legende: * Ergebnis der multivariaten Cox-Regressionsanalyse aufgrund eines signifikanten Zusammenhangs in der univariaten Analyse (adjustiert für andere Einflussgrößen). † Ergebnis der univariaten Cox-Regressionsanalyse (nicht adjustiert). ‡ Patienten mit mindestens einem MACE innerhalb von 30 Tagen vor dem individuellen Beobachtungsbeginn.

Für die Vorhersage der 1-Jahres-MACE-Inzidenz und 1-Jahres-Mortalität ergaben sich für zlog-proBNP eine AUC von 0,76 (95%-KI 0,72–0,81; $p < 0,001$) bzw. 0,80 (95%-KI 0,74–0,86; $p < 0,001$). Tabelle 10 zeigt die prognostischen Kenngrößen verschiedener zlog-proBNP-Grenzwerte. Entsprechende ROC-Kurven sind in den Abbildungen 8a und 8b dargestellt.

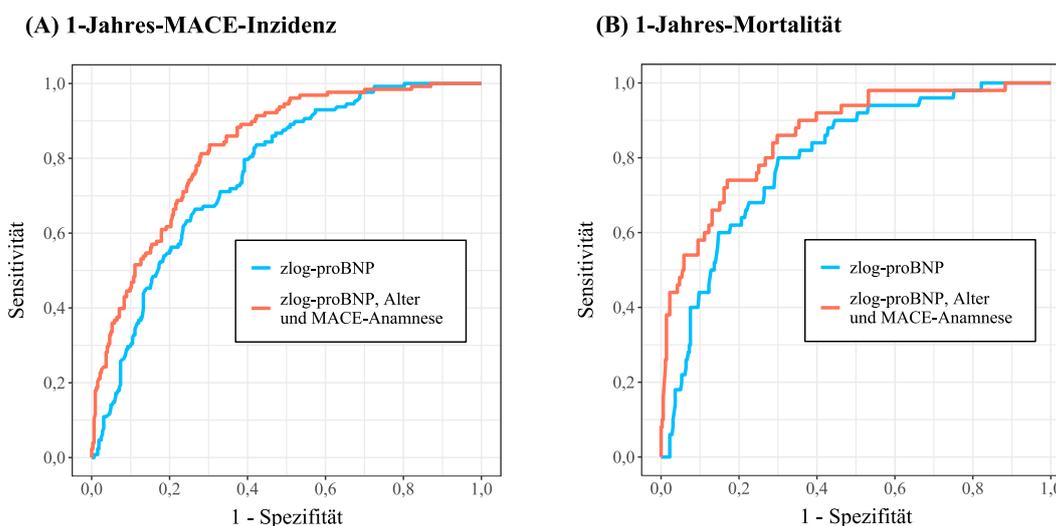


Abbildung 8: Prädiktion der 1-Jahres-MACE-Inzidenz und -Mortalität. Zur Vorhersage der 1-Jahres-MACE-Inzidenz (Abbildung A) und der 1-Jahres-Mortalität (Abbildung B) wurde eine ROC-Analyse für zlog-proBNP durchgeführt. Die Ergebnisse für verschiedene Grenzwerte sind in Tabelle 10 aufgeführt. Für die Kombination aus zlog-proBNP, Alter (als stetige, logarithmierte Variable) und 30-Tage-MACE-Anamnese wurde eine AUC von 0,83 (95%-KI, 0,79–0,87; $p < 0,001$) für die Vorhersage von MACE und eine AUC von 0,86 (95%-KI, 0,81–0,92; $p < 0,001$) für die Vorhersage der Mortalität ermittelt.

MACE (Abbildung 8a)					
Grenzwert für zlog-proBNP	Sensitivität	Spezifität	NPV	PPV	AUC (95%-KI)
+1,0	100%	17,9%	100%	14,2%	0,76 (0,72–0,81)
+1,96	89,5%	41,4%	96,7%	17,2%	
+3,0	68,4%	65,9%	93,9%	21,4%	
+4,0	31,6%	86,6%	90,3%	24,2%	
Mortalität (Abbildung 8b)					
Grenzwert für zlog-proBNP	Sensitivität	Spezifität	NPV	PPV	AUC (95%-KI)
+1,0	100%	18,2%	100%	16,0%	0,80 (0,74–0,86)
+1,96	94,5%	41,2%	98,0%	20,1%	
+3,0	80,0%	68,2%	95,6%	28,2%	
+4,0	43,6%	88,9%	91,0%	38,1%	

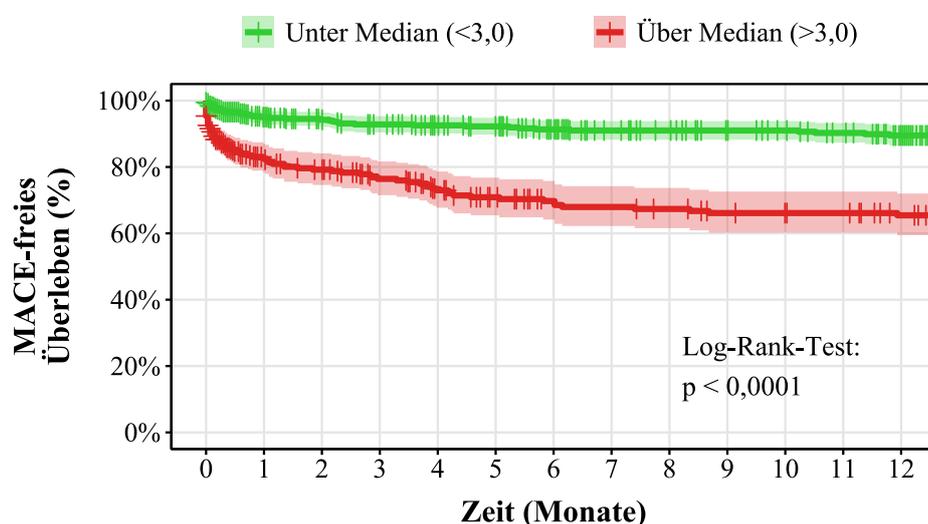
Tabelle 10: Prognostische Kenngrößen verschiedener zlog-proBNP-Grenzwerte zur Prädiktion der 1-Jahres-MACE-Inzidenz und -Mortalität.

3.2.4 Einflussgröße Alter

Von den exakt 1.000 durchgeführten Altersabgleichen mit Cox-Regressionsanalyse war zlog-proBNP insgesamt 956-mal, die absolute NT-proBNP-Konzentration hingegen nicht ein einziges Mal signifikant mit MACE assoziiert. Durchschnittlich betrug die adjustierte HR 1,09 (95%-KI 0,63–1,86; $p = 0,76$) für NT-proBNP und 1,35 (95%-KI 1,08–1,69; $p = 0,009$) für zlog-proBNP.

3.2.5 Hochrisikopatienten: Neugeborene und Säuglinge

Da 84,8% der MACE- und 85,5% der Todesfälle im ersten Lebensjahr auftraten, wurde zusätzlich eine Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse speziell für diese Population durchgeführt (Abbildung 9). Aufgrund der Altersdynamik von NT-proBNP ist die Verwendung von zlog-proBNP bei Neugeborenen und Säuglingen (unter 1 Jahr) besonders vorteilhaft. Einerseits lassen sich NT-proBNP-Werte auch ohne die Kenntnis der verschiedenen altersabhängigen Referenzintervalle leicht interpretieren, da das RI von zlog-proBNP unabhängig vom Alter zwischen -1,96 und +1,96 liegt. Andererseits wird mit der zlog-Standardisierung ein Vergleich von zu verschiedenen Zeitpunkten gemessenen NT-proBNP-Werten überhaupt erst ermöglicht. Abbildung 9 zeigt die Kaplan-Meier-Überlebenskurven unterhalb (zlog-proBNP < 3,0) und oberhalb des Medians (zlog-proBNP > 3,0) in dieser Altersgruppe.



Patienten unter Risiko

Unter Median	587	364	341	329	317	307	291	268	261	253	248	240	227
Über Median	323	195	181	161	142	129	117	114	111	106	104	103	96

Abbildung 9: Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit von zlog-proBNP bei Neugeborenen und Säuglingen. Kinder < 1 Jahr wurden anhand des medianen zlog-proBNP-Wertes ($\approx 3,0$) in zwei Gruppen geteilt und kumulative MACE-freie Überlebenskurven mit 95%-KI nach der Kaplan-Meier-Methode ermittelt. Der Log-Rank-Test ergab einen p-Wert von < 0,001.

4. Diskussion

4.1 Publikation I

Ziel der ersten Publikation war die Definition eines altersunabhängigen NT-proBNP-Referenzstandards, um Messwerte zwischen verschiedenen Altersgruppen vergleichbar zu machen und so den altersabhängigen Referenzintervallen Rechnung zu tragen.

4.1.1 Kontinuierliche Referenzintervallgrenzen von NT-proBNP

Aufgrund der ausgeprägten Altersdynamik sind die von Nir et al. ermittelten Referenzintervalle für NT-proBNP im klinischen Alltag nur bedingt brauchbar und absolute Konzentrationen vor allem während des ersten Lebensjahres schwer zu interpretieren. Die Definition eines NT-proBNP-spezifischen Z-Wertes als Interpretationshilfe wäre denkbar, ist aber aus zwei Gründen unzulässig: Ein Z-Wert setzt einerseits eine Normalverteilung (erfüllbar durch Logarithmierung) und andererseits symmetrische Intervallgrenzen voraus (DeVore 2017). Das einzige von Nir et al. ermittelte symmetrische Referenzintervall bildet die 5. und 95. Perzentile, die 90% der Gesunden umfasst. Um wie üblich 95% der gesunden Population abzubilden, wird neben der von Nir et al. ermittelten 97,5.-Perzentile (Obergrenze) die 2,5.-Perzentile (Untergrenze) benötigt. Ferner führt die Einteilung in diskrete Altersintervalle zu erheblichen Diskontinuitäten. So fällt beispielsweise die 97,5. Perzentile vom 2. auf den 3. Tag nach der Geburt von 13.222 auf 6.502 ng/L ab (Nir et al. 2009). Dies entspricht einer nicht physiologisch begründbaren Änderung von mehr als 50% innerhalb eines einzigen Tages. Kontinuierliche Referenzintervalle, wie sie bereits von mehreren Autoren vorgeschlagen wurden, sind daher eindeutig zu präferieren (Asgari et al. 2019; Zierk et al. 2017).

Der in dieser Publikation abgeleitete zlog-Wert von NT-proBNP basiert auf den Referenzwerten, die 2009 in der Übersichtsarbeit von Nir et al. veröffentlicht wurden (Nir et al. 2009). Diese Publikation stellt die bis dato größte Kohorte zur Ermittlung physiologischer NT-proBNP-Konzentrationen dar. Im ersten Schritt wurde die zur 97,5. (Obergrenze) symmetrische 2,5. Perzentile (Untergrenze) jeder Altersgruppe ermittelt (Tabelle 2). Die Darstellung der Ober- und Untergrenze in Abhängigkeit vom Alter ließ ein Potenzverhalten von 0 bis 18 Jahren vermuten. Dies entspricht einem linearen Zusammenhang in der doppellogarithmischen Darstellung (Abbildung 1). Bisher wurde von Rauh und Koch (Rauh & Koch 2003) und Schwachtgen et al. (Schwachtgen et al. 2005) nur ein unspezifisches nichtlineares Verhalten beschrieben. Mit den Ergebnissen der gewichteten Regressionsanalyse (Tabelle 3) wurden Funktionen für die logarithmierte 97,5., 50. und 2,5. Perzentile aufgestellt. Die hohen Determinationskoeffizienten der aufgestellten Gleichungen ($R^2 = 0,992$ für die Obergrenze, $R^2 = 0,988$ für den Median und $R^2 = 0,960$ für die Untergrenze) unterstreichen die hohe Modellgüte des postulierten Potenzverhaltens zwischen physiologischer NT-proBNP-Konzentration und dem Alter.

Auf die Gleichungen der logarithmierten 97,5., 50. und 2,5. Perzentile wurde die Umkehrfunktion des dekadischen Logarithmus angewandt. Die so erhaltenen Formeln für Obergrenze ($c_{97,5\%tile} = 14.487,7 * t^{-0,505}$), Median ($c_{50\%tile} = 2.612,2 * t^{-0,512}$) und Untergrenze ($c_{2,5\%tile} = 469,9 * t^{-0,519}$) berechnen damit absolute statt logarithmierte NT-proBNP-Konzentrationen in ng/L. Median, Ober- und Untergrenze der physiologischen NT-proBNP-Konzentration wiesen eine signifikante ($p < 0,001$) zeitliche Abhängigkeit gemäß $c_{NT-proBNP} \sim \frac{1}{\sqrt{t}}$ auf. Der so quantifizierte Zusammenhang ermöglicht erstmals die Bestimmung tagesgenauer NT-proBNP-Referenzintervalle vom ersten Tag nach der Geburt bis zu einem Alter von 18 Jahren. Aufgrund ihrer Kontinuität sind die Referenzwerte physiologisch plausibel und weniger fehlerbehaftet als die bisher verwendeten diskreten Referenzintervalle. Im direkten Vergleich der berechneten Ober- und Untergrenzen mit den Originaldaten von Nir et al. (Tabelle 4) kann sich der Leser von der Übereinstimmung über die gesamte Kindheit hinweg überzeugen (Nir et al. 2009). Gleichzeitig wurde das bislang fehlende Intervall von 12 bis 30 Tagen interpoliert und die bestehende Alterslücke dadurch geschlossen (Tabelle 4) (Nir et al. 2009).

4.1.2 NT-proBNP-spezifischer zlog-Wert

Im nachfolgenden Schritt sollte eine Möglichkeit gefunden werden, um NT-proBNP-Werte altersübergreifend, also unabhängig vom Referenzintervall, vergleichbar zu machen und so eine komfortable Interpretationshilfe im klinischen Alltag bereitzustellen. Bislang fehlte eine solche Methode. Zwar wäre ein NT-proBNP-spezifischer Z-Wert naheliegend und die zur 97,5. Perzentile symmetrische 2,5. Perzentile wurde inzwischen ergänzt, jedoch ist dessen Bildung aufgrund der rechtsschiefen Verteilung von NT-proBNP nicht zulässig. Für die Standardisierung nicht normalverteilter Biomarker konnte stattdessen der zlog-Wert (Gleichung 4) verwendet werden. Dieser wird analog zu einem normalen Z-Wert interpretiert (Hoffmann et al. 2018). Beide Werte geben die Anzahl der Standardabweichungen (SD, σ) an, um die der Wert einer Variablen (z. B. eine Biomarkerkonzentration) über oder unter deren Mittelwert (μ) liegt, wobei sich 95% der physiologischen Werte im Bereich von $\mu \pm 1,96 \sigma$ (\approx Mittelwert ± 2 SD) befinden. Weil zlog-Werte mit Logarithmen arbeiten, eignen sie sich auch für nicht normalverteilte Parameter wie NT-proBNP (Hoffmann et al. 2018).

Durch Substitution der benötigten Ober- und Untergrenze (Gleichung 4) mit den Formeln für kontinuierliche NT-proBNP-Referenzintervalle (Gleichungen 5 und 6) wurde eine altersbereinigte NT-proBNP-spezifischen zlog-Formel deduziert (Gleichung 7). Dessen Berechnung benötigt die gemessene NT-proBNP-Konzentration in ng/L und das Alter in Tagen. Analog zu einem Z-Wert gibt zlog-proBNP die Anzahl der logarithmierten Standardabweichungen σ an, um welche die gemessene NT-proBNP-Konzentration über oder unter dem altersspezifischen logarithmierten Mittelwert μ liegt. Weil μ und σ (bzw. Ober- und Untergrenze) in diesem Fall als Funktion des Alters ausgedrückt werden, wird die gemessene NT-proBNP-Konzentration immer in Relation zu den tagesgenauen Referenzintervallen gesetzt.

Dadurch wird zlog-proBNP selbst altersunabhängig. Sein Referenzbereich liegt zwischen -1,96 und +1,96 und ermöglicht durch diese Standardisierung den Vergleich von NT-proBNP-Konzentrationen zwischen verschiedenen Altersgruppen.

Um die Anwendbarkeit von zlog-proBNP in der täglichen Praxis zu erleichtern, wurde ein Online-Rechner entwickelt ([hier](#) verfügbar). Damit kann die zlog-Transformation mit beliebigen NT-proBNP-Alters-Kombinationen nachvollzogen werden. Ferner wird seit 2021 im Krankenhaus-/Laborinformationssystem des Deutschen Herzzentrums München jede NT-proBNP-Messung bei Kindern unter 18 Jahren standardmäßig mit dem zlog-proBNP-Wert angegeben.

4.1.3 Klinische Beispiele

Im ersten Beispiel wurden absolute (Abbildung 2) und zlog-transformierte (Abbildung 3) NT-proBNP-Werte einer Datenbankabfrage des Deutschen Herzzentrums München dargestellt. Die Mehrheit der Patienten litt an einer angeborenen oder erworbenen Herzerkrankung, weshalb die Werte nicht zur Herleitung von Referenzintervallen verwendet werden durften. Interessanterweise zeigt sich aber auch bei diesen Patienten klar ein nichtlineares Verhalten der Absolutwerte in Abhängigkeit des Alters und unterstützt damit die Ergebnisse der Publikation (Abbildung 2). Der leichte Abfall der zlog-transformierten NT-proBNP-Werte mit zunehmendem Alter (Abbildung 3) lässt sich durch das Überwiegen schwerer angeborener Herzfehler im Säuglingsalter erklären. Häufig müssen diese Patienten innerhalb der ersten Lebenswochen oder -monate operiert werden, um nicht bereits während der Säuglingsperiode zu versterben. Je älter die Patienten sind, desto höher ist der Anteil an Patienten mit leichten Fehlbildungen und desto geringer der Anteil derer mit abnormer Hämodynamik, da diese Vitien bereits korrigiert oder palliiert wurden. Bei der Betrachtung der absoluten NT-proBNP-Werte (Abbildung 2) kann aufgrund der altersabhängigen Referenzintervalle nicht direkt zwischen physiologischen und pathologischen Werten differenziert werden. Im Gegensatz dazu liegt in der zlog-Darstellung die Obergrenze unabhängig vom Alter bei +1,96. Physiologische Werte können dadurch unmittelbar von pathologischen unterschieden werden (Abbildung 3).

Im zweiten Beispiel wurde die absolute (Abbildung 4) bzw. zlog-transformierte (Abbildung 5) NT-proBNP-Konzentration einer Patientin mit dilatativer Kardiomyopathie jeweils mit der echokardiographisch ermittelten Ejektionsfraktion dargestellt. Im Laufe des ersten Lebensjahres kam es zu einer Abnahme der EF ausgehend von 60% (normale systolischen Herzfunktion) auf 20% (hochgradig eingeschränkte Pumpfunktion). Bisherige Studienergebnisse konnten eine Korrelation zwischen NT-proBNP und der systolischen Pumpfunktion auch bei Kardiomyopathien im Kindesalter nachweisen (Cantinotti et al. 2015; Price et al. 2006). Die absoluten NT-proBNP-Werte (Abbildung 4) lassen diesen Zusammenhang jedoch nicht vermuten. Während die Absolutwerte ohne Korrelation mit der EF in etwa konstant zu bleiben scheinen, spiegeln die zlog-proBNP-Werte (Abbildung 5) klar erkennbar die Verschlechterung der kardialen Pumpfunktion wider. So kaschiert der Abfall der physiologischen Konzentration im zeitlichen Verlauf den

krankheitsbedingten Anstieg von NT-proBNP bei dieser Patientin. Die Absolutwerte bleiben dem gegenüber in etwa konstant. Erst anhand der zlog-proBNP-Werte wird die Verschlechterung der systolischen Herzfunktion demaskiert.

4.1.4 Einschränkungen der Studie

Das Patientenkollektiv von Nir et al., auf dem die Berechnungen basieren, wurde nicht echokardiografisch, sondern klinisch als herzgesund definiert (Nir et al. 2009). Schwere Herzerkrankungen sind daher unwahrscheinlich, können aber nicht völlig ausgeschlossen werden. Nach Schwachtgen und Mir et al. steigt NT-proBNP am Tag der Geburt zunächst an und erreicht anschließend sein Maximum (Mir et al. 2003; Schwachtgen et al. 2005). Folglich dürfen die abgeleiteten Formeln für Ober-, Untergrenze, Median und zlog-proBNP nicht für den Tag der Geburt angewendet werden. Ferner basieren die Formeln für Unter- und Obergrenze auf dem postulierten Potenzverhalten. Somit wird ein konstanter Abfall der NT-proBNP-Konzentration zwischen 0 und 18. Jahren angenommen. Für den Altersbereich zwischen 12 und 30 Tagen wurde die Auswertung interpoliert. Im Hinblick auf das bislang fehlende Altersintervall sollte das zugrunde gelegte mathematische Modell durch eine klinische Studie mit Bestimmung von NT-proBNP-Referenzwerten in dieser Altersstufe validiert werden.

4.2 Publikation II

Ziel dieser Arbeit war die Evaluation der prognostischen Aussagekraft des neu eingeführten zlog-proBNP-Wertes hinsichtlich des Auftretens von MACE in einer großen pädiatrischen Kohorte aller Altersstufen. Bislang existierte keine Studie, die den prädiktiven Nutzen von NT-proBNP bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern untersucht hat. Daher wurden als Vergleich nur Studien herangezogen, die Patienten mit erworbenen Herzerkrankungen (z. B. Kardiomyopathien) einschließen oder BNP anstelle von NT-proBNP verwenden.

4.2.1 Rolle des Alters

Wie bereits in früheren Studien gezeigt wurde, ist die physiologische NT-proBNP-Dynamik durch außergewöhnlich hohe Konzentrationen in den ersten Lebenstagen und einem dramatischen Abfall, insbesondere während des ersten Jahres, gekennzeichnet (Lam et al. 2020; Nir et al. 2009). Dieselbe Dynamik wurde bei Frühgeborenen beschrieben (Fritz et al. 2021). Die von Nir et al. ermittelten Referenzintervalle, auf denen zlog-proBNP basiert, stimmen zudem mit kürzlich ermittelten Referenzintervallen bei extrem unreifen Frühgeborenen überein (Fritz et al. 2021). Das erste Lebensjahr – in dem die NT-proBNP-Dynamik am stärksten ausgeprägt ist –

stellt bekanntermaßen den kritischsten Zeitraum bei Patienten mit angeborenen Herzfehlern dar (Gilboa et al. 2010). In der untersuchten Kohorte wurde eine ähnliche Altersabhängigkeit beobachtet: 84,8% aller MACE- und 85,5% aller Todesfälle traten während des ersten Lebensjahres auf. Nur durch Operationen oder Interventionen während dieses Zeitraums erhalten schwere und komplexe Vitien eine ernsthafte Überlebenschance. Gleichzeitig sind die Eingriffe äußerst risikoreich. Zudem führt die zugrundeliegende Hämodynamik schwerer angeborener Herzfehler meist zu einer starken Druck- oder Volumenbelastung des Herzmuskels. Je nach Ausprägung kann es dadurch zu einer akuten oder chronischen Herzinsuffizienz kommen (Cantinotti et al. 2011; Westerlind et al. 2008). Es ist daher nicht überraschend, dass bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern die Mortalität und das Auftreten von MACE altersabhängig sind (Gilboa et al. 2010). Insbesondere für Hochrisikopatienten unter 1 Jahr, bei denen MACE am häufigsten auftritt und die Altersdynamik am ausgeprägtesten ist, konnte in einer separaten Analyse der klar korrelierte prädiktive Nutzen von zlog-proBNP gezeigt werden (Abbildung 9).

4.2.2 Dreiecksbeziehung: Alter – MACE – NT-proBNP

Im ersten Lebensjahr liegen sowohl physiologisch hohe NT-proBNP-Konzentrationen als auch, davon unabhängig, ein gehäuftes Auftreten von MACE wegen der Häufung schwerer und komplexer angeborener Herzfehler vor. Diese zufällige Verknüpfung von hoher NT-proBNP-Konzentration und gehäuften Auftreten von MACE über den Mediator Alter darf nicht mit einer Ursache-Wirkungs-Beziehung verwechselt werden, da eine Korrelation nicht automatisch eine Kausalität impliziert („*cum hoc ergo propter hoc*“). Um einen solchen Trugschluss zu vermeiden und den wahren Zusammenhang zwischen NT-proBNP und MACE beurteilen zu können, muss das Alter als gemeinsamer Faktor dissoziiert werden. Dies wurde in der Studie durch die Verwendung von zlog-proBNP anstelle absoluter NT-proBNP-Werte erreicht.

Die Ergebnisse der Cox-Regressionsanalyse (Tabelle 9) bestätigen den klaren Zusammenhang von zlog-proBNP ($p < 0,001$), Alter ($p < 0,001$), positiver MACE-Anamnese ($p < 0,001$) und Kreatinin ($p = 0,01$) mit dem Auftreten von MACE. Für die Prädiktion der Mortalität waren zlog-proBNP ($p < 0,001$), Alter ($p < 0,001$) und eine positive MACE-Anamnese ($p < 0,001$) als einzige Indikatoren signifikant prädiktiv. Von allen untersuchten Biomarkern war der zlog-transformierte NT-proBNP-Wert der beste (MACE) bzw. einzig signifikante (Mortalität) Prädiktor. Auch nach Adjustierung für andere Einflussgrößen blieb zlog-proBNP der stärkste Prädiktor für MACE und Mortalität neben dem Alter (Tabelle 9).

Allein die Verwendung von zlog-proBNP erlaubt es, eine valide Risikostratifizierung bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern vorzunehmen und Niedrig- von Hochrisikopatienten zu unterscheiden (Abbildung 7). Sowohl MACE als auch Mortalität können mit zlog-proBNP zuverlässig sowohl vorhergesagt als auch ausgeschlossen werden (Tabelle 10, Abbildungen 8a und 8b).

Auch bei den 1.000 durchgeführten paarweisen Altersabgleichen mit Cox-Regressionsanalyse war zlog-proBNP ein äußerst zuverlässiger Prädiktor für MACE (insgesamt 956-mal signifikant).

Die absolute NT-proBNP-Konzentration hingegen besaß keinerlei Vorhersagekraft bezüglich des Auftretens von MACE und erreichte nicht ein einziges Mal Signifikanz. Somit scheint es, dass die hohe prognostische Aussagekraft von NT-proBNP über zlog-proBNP, nicht jedoch *qua* Korrelation mit absoluten NT-proBNP-Konzentrationen erzielt werden kann. Aufgrund seiner hohen prognostischen Validität und Überlegenheit zur Vorhersage von MACE und Mortalität ist zlog-proBNP von hohem klinischem Wert und seine Anwendung aktuell alternativlos.

4.2.3 Vergleich mit früheren Studien

Bis vor kurzem konnte die Altersdynamik von NT-proBNP nur adäquat berücksichtigt werden, indem Studienkollektive anhand der verschiedenen Referenzintervalle in Subgruppen aufgeteilt wurden. Dies hätte in der Regel dazu geführt, dass die Subgruppen zu klein für eine statistisch signifikante Auswertung gewesen wären. Des Weiteren wäre für jede Gruppe die Angabe eigener Grenzwerte, beispielsweise zum Ausschluss einer akuten Herzinsuffizienz, notwendig gewesen. Es ist nicht verwunderlich, dass nur die bislang größte Studie ($n = 138$; mittleres Alter, 3,4 Jahre; IQR, 1,1–11,0 Jahre) eine solche Gruppenbildung vorgenommen hat (Auerbach et al. 2010). Obwohl die Autoren BNP grundsätzlich einen prognostischen Wert zur Vorhersage von MACE zuordnen konnten, wurde lediglich ein einheitlicher Grenzwert zur Identifikation von Hochrisikopatienten festgelegt und altersabhängige Referenzintervalle entsprechend nicht berücksichtigt (Auerbach et al. 2010; Cantinotti et al. 2011). Die ROC-Analyse in dieser Studie lieferte eine AUC von 0,71 (95%-KI 0,60–0,81) für die Prädiktion von MACE (Auerbach et al. 2010). Für zlog-proBNP wurde ein ähnliches, aber besseres Ergebnis erzielt (AUC 0,76 [0,72–0,81]). Die untersuchte Studienpopulation war vergleichsweise wesentlich größer, bestand ausschließlich aus Kindern mit angeborenen Herzfehlern, deckte die gesamte Kindheit vom Neugeborenen bis zum Alter von 18 Jahren ab und untersuchte zlog-proBNP, wodurch altersabhängige Referenzintervalle adäquat berücksichtigt wurden.

Eine andere Studie ergab, dass BNP bei Kindern mit dilatativer Kardiomyopathie und ventrikulärer Dysfunktion ($n = 56$, medianes Alter 9,3 Jahre, IQR, 2,7–15,1 Jahre) einen hohen prädiktiven Wert für die Vorhersage von plötzlichem Herztod, kardial-bedingte Hospitalisierung und Listung zur Herztransplantation hat (Price et al. 2006). Weitere Hinweise auf eine prognostische Bedeutung von NT-proBNP lieferte eine prospektive Studie mit 65 Kindern mit angeborenen Herzfehlern, bei der verstorbene Patienten höhere NT-proBNP-Konzentrationen aufwiesen als überlebende (Zhang et al. 2019). Obwohl anschließend keine Überlebenszeitanalyse durchgeführt wurde, stehen die Studienergebnisse in Einklang mit unseren Ergebnissen (Zhang et al. 2019).

4.2.4 Ausblick

Angesichts der begrenzten und bislang auf einzelne Diagnosegruppen aufgeteilten Datenlage ist es nicht verwunderlich, dass bisher keine Biomarker in die kinder-kardiologischen Leitlinien aufgenommen wurden. Mit den Ergebnissen dieser Publikation konnte erstmals für zlog-proBNP ein hoher prognostischer Wert in einer umfassenden und als Einheit betrachtbaren Kohorte von Kindern aller Alters- und Diagnosegruppen nachgewiesen werden. Die Altersunabhängigkeit der zlog-proBNP-Referenz erlaubt die Determinierung von *cutoff*- bzw. Entscheidungswerten, die für das gesamte Kindesalter gültig sind. Die Chancen stehen gut, dass zlog-proBNP in Zukunft eine zentrale Rolle bei der Behandlung von Kindern mit angeborenen und erworbenen Herzerkrankungen spielen wird. Theoretisch wäre eine analoge Anwendung mit Einsatz in der Erwachsenen-kardiologie denkbar und vermutlich hilfreich, zumal auch dort eine - wenn auch weniger ausgeprägte - altersabhängige Dynamik vorliegt, wie bereits oben im Kapitel „Altersdynamik“ beschrieben (Redfield et al. 2002).

4.2.5 Einschränkungen der Studie

Bei dieser Studie handelt es sich um eine retrospektive Analyse. Es wurde bewusst auf echokardiographische Parameter wie die Ejektionsfraktion verzichtet, da diese aufgrund der anatomischen Heterogenität bei vielen komplexen Herzerkrankungen (z.B. mit einem rechten Systemventrikel) nicht für unterschiedliche Ventrikelgeometrien standardisiert sind. Darüber hinaus wurden die Funktionsklassen nicht bewertet, da sie durch subjektive Angaben der Eltern verfälscht werden können und in einem klinischen Umfeld nach chirurgischen oder katheterinterventionellen Eingriffen schwer zu beurteilen sind.

5. Zusammenfassung

5.1 Publikation I

Der Erstautor entwickelte die wichtigsten konzeptionellen Ideen, sichtete die bereits vorhandene Literatur kritisch und sammelte und analysierte die klinischen Daten. Mit Hilfe und in Absprache mit den Koautoren führte der Erstautor die statistische Datenanalyse durch und verfasste federführend das Manuskript. Alle genannten Autoren diskutierten die Ergebnisse und trugen zum endgültigen Manuskript bei. Auch die Revision des Manuskripts wurde federführend vom Erstautor durchgeführt.

Titel

„Continuous, complete and comparable NT-proBNP reference ranges in healthy children“ von Jonas Palm, Prof. Dr. med. Georg Hoffmann, Prof. Dr. Frank Klawonn, Prof. Dr. med. Oktay Tutarel, Prof. Dr. Herbert Palm, Prof. Dr. med. Stefan Holdenrieder und Prof. Dr. med. Peter Ewert

Hintergrund

NT-proBNP ist einer der wichtigsten Biomarker zur Diagnostik und Risikostratifizierung einer Herzinsuffizienz bei Erwachsenen mit erworbenen Herzerkrankungen. Bei diesen Patienten gelten alters- und geschlechtsunabhängige Grenzwerte. Im Gegensatz dazu sind die Referenzintervalle bei Kindern stark altersabhängig und existieren bisher noch nicht für alle Altersgruppen. Aufgrund der rechtsschiefen Verteilung von NT-proBNP ist die Bildung eines Z-Werts unzulässig und eine altersübergreifende Interpretationsmethode fehlt bislang.

Methodik

Es wurde ein neues Standardisierungsverfahren auf bereits publizierte NT-proBNP-Referenzintervalle angewandt. Mittels linearer Regressionsanalyse wird in einer doppellogarithmischen Darstellung überprüft, ob die obere Referenzintervallgrenze (97,5. Perzentile), der Median (50. Perzentile) und die untere Referenzintervallgrenze (2,5. Perzentile) sich in Abhängigkeit zum Alter wie eine Potenzfunktion verhalten. Es werden Funktionen für kontinuierliche Referenzintervalle abgeleitet, um obere und untere Referenzintervallgrenze tagesgenau ermitteln zu können und eine NT-proBNP-spezifische zlog-Formel hergeleitet. Der praktische Nutzen wird anhand zweier Beispiele aus dem klinischen Alltag verdeutlicht.

Ergebnisse

Die NT-proBNP-Konzentration verhält sich zwischen 0 und 18 Jahren wie eine Potenzfunktion zum Alter. Mit dem Alter in Tagen t und der gemessenen NT-proBNP-Konzentration x in ng/L kann mittels der folgenden Gleichung direkt ein altersspezifischer zlog-Wert für NT-proBNP berechnet werden:

$$z\log_{\text{NT-proBNP}} = \frac{\log x + 0,512 * \log t - 3,417}{1,489 + 0,014 * \log t} * 3,92$$

Schlussfolgerungen

Unter Verwendung der Formeln für Ober- und Untergrenze können kontinuierliche Referenzintervalle von 0 bis 18 Jahren ermittelt werden. Diese Kontinuität entspricht den physiologischen Veränderungen im Körper wesentlich besser als die Sprünge bei diskreten Referenzwerten. Mit der Einführung des zlog-Wertes von NT-proBNP (abgekürzt zlog-proBNP) steht erstmals ein altersübergreifendes Z-Wert-Äquivalent als einfache Interpretationshilfe im klinischen Alltag zur Verfügung. Mit diesem neuen Ansatz lässt sich eine klinische Verschlechterung wesentlich leichter, früher und besser erkennen als mit den bisher genutzten absoluten NT-proBNP-Konzentrationen.

5.2 Publikation II

Der Erstautor entwickelte die wichtigsten konzeptionellen Ideen, sichtete die bereits vorhandene Literatur kritisch und sammelte und analysierte die klinischen Daten. Mit Hilfe und in Absprache mit den Koautoren führte der Erstautor die statistische Datenanalyse durch und verfasste federführend das Manuskript. Alle genannten Autoren diskutierten die Ergebnisse und trugen zum endgültigen Manuskript bei. Auch die Revision des Manuskripts wurde federführend vom Erstautor durchgeführt.

Titel

„Predicting major adverse cardiovascular events in children with age-adjusted NT-proBNP“ von Jonas Palm, Prof. Dr. med. Stefan Holdenrieder, Prof. Dr. med. Georg Hoffmann, Prof. Dr. Jürgen Hörer, Ruibing Shi (M.Sc.), Prof. Dr. Frank Klawonn und Prof. Dr. med. Peter Ewert

Hintergrund

NT-proBNP wird häufig als aussagekräftiger prognostischer Marker in der Erwachsenenkardiologie eingesetzt. In der Kinderkardiologie hingegen wurde er aufgrund seiner starken Altersab-

hängigkeit bislang nicht etabliert. Zur Lösung dieses Problems wurde vor Kurzem der zlog-Wert von NT-proBNP (zlog-proBNP) als altersübergreifender Referenzwert eingeführt. Ziel dieser Studie ist die Evaluation der prognostischen Aussagekraft von zlog-proBNP für das Auftreten von schwerwiegenden kardialen Ereignissen (engl. *major adverse cardiovascular events*, MACE) bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern.

Methodik

Insgesamt wurden 910 Kinder (medianes Alter 5 Monate; Spannweite 0,0–18,0 Jahre) mit angeborenen Herzfehlern in die Studie eingeschlossen. MACE wurde definiert als Tod (jedweder Genese), Reanimation, mechanische Kreislaufunterstützung (ECMO-/VAD-Implantation) oder Krankeneinweisung aufgrund einer kardialen Dekompensation. Da die physiologische NT-proBNP-Konzentration im Kindesalter starken Schwankungen unterliegt, wurden zlog-Werte für eine altersunabhängige Auswertung verwendet.

Ergebnisse

Während eines medianen Beobachtungszeitraum von 6 Monaten (Spannweite 1 Tag bis 7,6 Jahre) trat bei 138 Kindern mindestens ein MACE auf. Hohe zlog-proBNP-Werte (über +3,0) waren am stärksten mit MACE assoziiert ($n = 93$; adjustierte HR [95%-KI] 21,1 [2,9–154,2]; $p < 0,001$). Von allen eingeschlossenen Indikatoren war zlog-proBNP der beste Prädiktor für MACE (adjustierte HR [95%-KI] 1,52 [1,31–1,76]; $p < 0,001$) neben dem Alter. Zudem war zlog-proBNP der absoluten NT-proBNP-Konzentration prädiktiv überlegen. Ein Grenzwert von +1,96, der unabhängig vom Alter die Obergrenze der physiologischen NT-proBNP-Konzentration darstellt, erzielte einen negativen prädiktiven Wert von >96%.

Schlussfolgerungen

Zlog-proBNP überwindet das Problem der starken Altersabhängigkeit von NT-proBNP und ist ein äußerst zuverlässiger prognostischer Marker für die Vorhersage von MACE bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern. Dadurch besitzt zlog-proBNP das Potenzial, zukünftig eine zentrale Rolle in der Kinderkardiologie zu spielen.

Literaturverzeichnis

Abebe Tamrat, Gebreyohannes Eyob, Tefera Yonas, Bhagavathula Akshaya, Erku Daniel, Belachew Sewunet, Gebresillassie Begashaw und Abegaz Tadesse. (2018). The prognosis of heart failure patients: Does sodium level play a significant role? *PLoS One*, 13(11), e0207242.

Asgari Shervin, Higgins Victoria, McCudden Christopher und Adeli Khosrow. (2019). Continuous reference intervals for 38 biochemical markers in healthy children and adolescents: Comparisons to traditionally partitioned reference intervals. *Clinical Biochemistry*, 73, 82-89.

Auerbach Scott R., Richmond Marc E., Lamour Jacqueline M., Blume Elizabeth D., Addonizio Linda J., Shaddy Robert E., Mahony Lynn, Pahl Elfriede und Hsu Daphne T. (2010). BNP levels predict outcome in pediatric heart failure patients: post hoc analysis of the Pediatric Carvedilol Trial. *Circulation: Heart Failure*, 3(5), 606-611.

Austin Wendy J., Bhalla Vikas, Hernandez-Arce Israel, Isakson Susan R., Beede Jennifer, Clopton Paul, Maisel Alan S. und Fitzgerald Robert L. (2006). Correlation and Prognostic Utility of B-Type Natriuretic Peptide and Its Amino-Terminal Fragment in Patients With Chronic Kidney Disease. *American Journal of Clinical Pathology*, 126(4), 506-512.

Cameron Vicky A., Aitken Geoff D., Ellmers Leigh J., Kennedy Martin A. und Espiner Eric A. (1996). The sites of gene expression of atrial, brain, and C-type natriuretic peptides in mouse fetal development: temporal changes in embryos and placenta. *Endocrinology*, 137(3), 817-824.

Cantinotti Massimiliano, Giovannini Stefania, Murzi Bruno und Clerico Aldo. (2011). Diagnostic, prognostic and therapeutic relevance of B-type natriuretic hormone and related peptides in children with congenital heart diseases. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 49(4), 567-580.

Cantinotti Massimiliano, Law Yuk, Vittorini Simona, Crocetti Maura, Marco Marotta, Murzi Bruno und Clerico Aldo. (2014). The potential and limitations of plasma BNP measurement in the diagnosis, prognosis, and management of children with heart failure due to congenital cardiac disease: an update. *Heart Failure Reviews*, 19(6), 727-742.

Cantinotti Massimiliano, Walters Henry L., Crocetti Maura, Marotta Marco, Murzi Bruno und Clerico Aldo. (2015). BNP in children with congenital cardiac disease: is there now sufficient evidence for its routine use? *Cardiology in the Young*, 25(3), 424-437.

Dalen James E., Alpert Joseph S., Goldberg Robert J. und Weinstein Ronald S. (2014). The epidemic of the 20(th) century: coronary heart disease. *The American Journal of Medicine*, 127(9), 807-812.

DeVore Gregory R. (2017). Computing the Z Score and Centiles for Cross-sectional Analysis: A Practical Approach. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 36(3), 459-473.

Dimopoulos Konstantinos, Diller Gerhard-Paul, Koltsida Evdokia, Pijuan-Domenech Antonia, Papadopoulou Sofia A., Babu-Narayan Sonya V., Salukhe Tushar V., Piepoli Massimo F.,

- Poole-Wilson Philip A., Best Nicky, Francis Darrel P. und Gatzoulis Michael A. (2008). Prevalence, predictors, and prognostic value of renal dysfunction in adults with congenital heart disease. *Circulation*, 117(18), 2320-2328.
- Fradley Michael G., Larson Martin G., Cheng Susan, McCabe Elizabeth, Coglianese Erin, Shah Ravi V., Levy Daniel, Vasani Ramachandran S. und Wang Thomas J. (2011). Reference limits for N-terminal-pro-B-type natriuretic peptide in healthy individuals (from the Framingham Heart Study). *American Journal of Cardiology*, 108(9), 1341-1345.
- Fritz Agnes-Sophie, Keller Titus, Kribs Angela und Hünseler Christoph. (2021). Reference values for N-terminal Pro-brain natriuretic peptide in premature infants during their first weeks of life. *European journal of pediatrics*, 180(4), 1193-1201.
- Gilboa Suzanne M., Salemi Jason L., Nembhard Wendy N., Fixler David E. und Correa Adolfo. (2010). Mortality resulting from congenital heart disease among children and adults in the United States, 1999 to 2006. *Circulation*, 122(22), 2254-2263.
- Goetze Jens P., Bruneau Benoit G., Ramos Hugo R., Ogawa Tsuneo, de Bold Mercedes K. und de Bold Adolfo J. (2020). Cardiac natriuretic peptides. *Nature Reviews Cardiology*, 17(11), 698-717.
- Guignard Jean-Pierre, Torrado Antonio, Da Cunha Otilia und Gautier Emile. (1975). Glomerular filtration rate in the first three weeks of life. *The Journal of Pediatrics*, 87(2), 268-272.
- Hall Christian. (2004). Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *European Journal of Heart Failure*, 6(3), 257-260.
- Hoffman Julien I. E. und Kaplan Samuel. (2002). The incidence of congenital heart disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 39(12), 1890-1900.
- Hoffmann Georg, Klawonn Frank, Lichtinghagen Ralf und Orth Matthias. (2018). The zlog value as a basis for the standardization of laboratory results. *Journal of Laboratory Medicine*, 1(41), 23-32.
- Hoseini Rozita, Otukesh Hasan, Rahimzadeh Nahid und Hoseini Sara. (2012). Glomerular function in neonates. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 6(3), 166-172.
- Kajimoto Katsuya, Sato Naoki, Takano Teruo und registry Investigators of the Acute Decompensated Heart Failure Syndromes. (2016). Association of anemia and renal dysfunction with in-hospital mortality among patients hospitalized for acute heart failure syndromes with preserved or reduced ejection fraction. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*, 5(7), 89-99.
- Kindel Steven J. (2021). Pediatric Data for Pediatric Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 78(19), 1901-1903.
- Kragelund Charlotte, Gronning Bjørn, Kober Lars, Hildebrandt Per und Steffensen Rolf. (2005). N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. *The New England Journal of Medicine*, 352(7), 666-675.

Lam Emily, Higgins Victoria, Zhang Liyong, Chan Man Khun, Bohn Mary Kathryn, Trajcevski Karin, Liu Peter, Adeli Khosrow und Nathan Paul C. (2020). Normative values of high-sensitivity cardiac troponin T and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in children and adolescents: a study from the CALIPER cohort. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*.

Linde Cecilia, Qin Lei, Bakhai Ameet, Furuland Hans, Evans Marc, Ayoubkhani Daniel, Palaka Eirini, Bennett Hayley und McEwan Phil. (2019). Serum potassium and clinical outcomes in heart failure patients: results of risk calculations in 21 334 patients in the UK. *ESC Heart Failure*, 6(2), 280-290.

Lindinger Angelika, Schwedler Gerda und Hense Hans-Werner. (2010). Prevalence of congenital heart defects in newborns in Germany: Results of the first registration year of the PAN Study (July 2006 to June 2007). *Klinische Pädiatrie*, 222(5), 321-326.

Martinez-Millana Antonio, Hulst Jessie M., Boon Mieke, Witters Peter, Fernandez-Llatas Carlos, Asseiceira Ines, Calvo-Lerma Joaquin, Basagoiti Ignacio, Traver Vicente, De Boeck Kris und Ribes-Koninckx Carmen. (2018). Optimisation of children z-score calculation based on new statistical techniques. *PLoS One*, 13(12), e0208362.

McDonagh Theresa A., Metra Marco, Adamo Marianna, Gardner Roy S., Baumbach Andreas, Böhm Michael, Burri Haran, Butler Javed, Čelutkienė Jelena, Chioncel Ovidiu, Cleland John G. F., Coats Andrew J. S., Crespo-Leiro Maria G., Farmakis Dimitrios, Gilard Martine, Heymans Stephane, Hoes Arno W., Jaarsma Tiny, Jankowska Ewa A., . . . Group ESC Scientific Document. (2021). 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal*, 42(36), 3599-3726.

Mir Thomas S., Laux Reinhard, Hellwege Hans H., Liedke Bozena, Heinze Cornelius, von Buelow Helmut, Läer Stephanie und Weil Jochen. (2003). Plasma concentrations of aminoterminal pro atrial natriuretic peptide and aminoterminal pro brain natriuretic peptide in healthy neonates: marked and rapid increase after birth. *Pediatrics*, 112(4), 896-899.

Mishra Rakesh K., Beatty Alexis L., Jaganath Rajesh, Regan Mathilda, Wu Alan H. B. und Whooley Mary A. (2014). B-type natriuretic peptides for the prediction of cardiovascular events in patients with stable coronary heart disease: the Heart and Soul Study. *Journal of the American Heart Association*, 3(4), e000907.

Nir Amiram, Lindinger Angelika, Rauh Manfred, Bar-Oz Benjamin, Laer Stephanie, Schwachtgen Lynn, Koch Andreas, Falkenberg Jan und Mir Thomas S. (2009). NT-pro-B-type natriuretic peptide in infants and children: reference values based on combined data from four studies. *Pediatric Cardiology*, 30(1), 3.

Opotowsky Alexander R., Valente Anne Marie, Alshawabkeh Laith, Cheng Susan, Bradley Allison, Rimm Eric B. und Landzberg Michael J. (2018). Prospective cohort study of C-reactive

protein as a predictor of clinical events in adults with congenital heart disease: results of the Boston adult congenital heart disease biobank. *European Heart Journal*, 39(34), 3253-3261.

Packer Milton, Fowler Michael B., Roecker Ellen B., Coats Andrew J., Katus Hugo A., Krum Henry, Mohacsi Paul, Rouleau Jean L., Tendera Michal, Staiger Christoph, Holcslaw Terry L., Amann-Zalan Ildiko und DeMets David L. (2002). Effect of carvedilol on the morbidity of patients with severe chronic heart failure: results of the carvedilol prospective randomized cumulative survival (COPERNICUS) study. *Circulation*, 106(17), 2194-2199.

Palm Jonas, Hoffmann Georg, Klawonn Frank, Tutarel Oktay, Palm Herbert, Holdenrieder Stefan und Ewert Peter. (2020). Continuous, complete and comparable NT-proBNP reference ranges in healthy children. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 58(9), 1509-1516.

Palmer Suetonia C. und Richards A. Mark. (2009). Does renal clearance differ between the B-type natriuretic peptides (BNP versus NT-proBNP)? *Journal of the American College of Cardiology*, 53(10), 891-892.

Potter Lincoln R. (2011). Natriuretic peptide metabolism, clearance and degradation. *The FEBS Journal*, 278(11), 1808-1817.

Price Jack F., Thomas Anne K., Grenier Michelle, Eidem Benjamin W., O'Brian Smith E., Denfield Susan W., Towbin Jeffrey A. und Dreyer William J. (2006). B-type natriuretic peptide predicts adverse cardiovascular events in pediatric outpatients with chronic left ventricular systolic dysfunction. *Circulation*, 114(10), 1063-1069.

Rauh Manfred und Koch Andreas. (2003). Plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in a control population of infants and children. *Clinical Chemistry*, 49(9), 1563-1564.

Redfield Margaret M., Rodeheffer Richard J., Jacobsen Steven J., Mahoney Douglas W., Bailey Kent R. und Burnett John C. (2002). Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *Journal of the American College of Cardiology*, 40(5), 976-982.

Schwachtgen Lynn, Herrmann Martin, Georg Thomas, Schwarz Peter, Marx Nikolaus und Lindinger Angelika. (2005). Reference values of NT-proBNP serum concentrations in the umbilical cord blood and in healthy neonates and children. *Zeitschrift für Kardiologie*, 94(6), 399-404.

Shaddy Robert E., Boucek Mark M., Hsu Daphne T., Boucek Robert J., Canter Charles E., Mahony Lynn, Ross Robert D., Pahl Elfriede, Blume Elizabeth D., Dodd Debra A., Rosenthal David N., Burr Jeri, LaSalle Bernie, Holubkov Richard, Lukas Mary A. und Tani Lloyd Y. (2007). Carvedilol for children and adolescents with heart failure: a randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association*, 298(10), 1171-1179.

Simpson John M. und Chubb Henry. (2017). Do we finally have the A to Z of Z scores? *Circulation: Cardiovascular Imaging*, 10(11), e007191.

Tzikas Stergios, Keller Till, Wild Philipp S., Schulz Andreas, Zwiener Isabella, Zeller Tanja, Schnabel Renate B., Sinning Christoph, Lubos Edith, Kunde Jan, Münzel Thomas, Lackner Karl J. und Blankenberg Stefan. (2013). Midregional pro-atrial natriuretic peptide in the general population/Insights from the Gutenberg Health Study. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 51(5), 1125-1133.

Westerlind Andreas, Wåhlander Håkan, Berggren Håkan, Lundberg Per-Arne und Holmgren Daniel. (2008). Plasma levels of natriuretic peptide type B and A in children with heart disease with different types of cardiac load or systolic dysfunction. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 28(4), 277-284.

Zhang Rufang, Gong Jin, Wang Shouqing, Shen Li, Xie Yewei und Li Xiaobing. (2019). Relationship Between Serum B7-H3 Levels and Prognosis of Congenital Heart Disease in Children. *Pediatric Cardiology*, 40(1), 177-181.

Zierk Jakob, Arzideh Farhad, Haeckel Rainer, Cario Holger, Fruhwald Michael C., Gross Hans-Jürgen, Gscheidmeier Thomas, Hoffmann Reinhard, Krebs Alexander, Lichtinghagen Ralf, Neumann Michael, Ruf Hans-Georg, Steigerwald Udo, Streichert Thomas, Rascher Wolfgang, Metzler Markus und Rauh Manfred. (2017). Pediatric reference intervals for alkaline phosphatase. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 55(1), 102-110.

Gleichungsverzeichnis

Gleichung 1: $NT\text{-proBNP}_{2,5\%tile} = 10^{\log 2,5\%tile}$

Gleichung 2: $c(t) = c_0 * t^{-a}$

Gleichung 3: $y = \log c(t) = \log c_0 - a * x$

Gleichung 4:
$$zlog = \frac{\log(\text{Messwert}) - \frac{\log(\mathbf{UG}) + \log(\mathbf{OG})}{2}}{\log(\mathbf{OG}) - \log(\mathbf{UG})} * 3,92$$

Gleichung 5: $\log \mathbf{UG} = \log 2,5\%tile = 2,672 - 0,519 * \log t$

Gleichung 6: $\log \mathbf{OG} = \log 97,5\%tile = 4,161 - 0,505 * \log t$

Gleichung 7:
$$zlog_{NT\text{-proBNP}} = \frac{\log x + 0,512 * \log t - 3,417}{1,489 + 0,014 * \log t} * 3,92$$

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Altersgruppen nach Nir et al. und Berechnung der 50. Perzentile	21
Tabelle 2: Berechnung der 2,5. Perzentile	22
Tabelle 3: Ergebnis der gewichteten linearen Regressionsanalyse	22
Tabelle 4: Referenzintervalle von NT-proBNP für verschiedene Altersgruppen	25
Tabelle 5: Basischarakteristika der Studienpopulation	31
Tabelle 6: Zugrundeliegende Diagnosen des Studienkollektivs	32
Tabelle 7: Vergleich der Basischarakteristika von Patienten mit und ohne MACE	33
Tabelle 8: Risiko für das Auftreten von MACE und Tod nach zlog-proBNP-Gruppen	35
Tabelle 9: Cox-Regressionsanalyse für MACE und Mortalität	36
Tabelle 10: Prognostische Kenngrößen verschiedener zlog-proBNP-Grenzwerte	37
Tabelle 11: Basisdaten zu den verwendeten Biomarkern	57

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Doppellogarithmische Darstellung der NT-proBNP-RI als Funktion des Alters	23
Abbildung 2: Absolute NT-proBNP-Werte von 2.120 herzkranken Kindern und Jugendlichen ..	27
Abbildung 3: Zlog-transformierte NT-proBNP-Werte der Abbildung 3	27
Abbildung 4: Absolute NT-proBNP-Konzentration und EF bei einem Säugling mit DCM	29
Abbildung 5: Zlog-transformierte NT-proBNP-Werte und EF bei dem Säugling mit DCM	29
Abbildung 6: Flussdiagramm der Patientenauswahl	30
Abbildung 7: Kaplan-Meier-Kurven für verschiedene zlog-proBNP-Werte	34
Abbildung 8: ROC-Kurven zur Prädiktion der 1-Jahres-MACE-Inzidenz und -Mortalität	37
Abbildung 9: Kaplan-Meier-Kurven bei Kindern unter 1 Jahr	38

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Promotionsschrift begleitet und in spezieller Form unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt zunächst Herrn Prof. Dr. Peter Ewert, meinem Doktorvater und Mentor, der diese Promotionsarbeit in vielfacher Hinsicht gefördert hat. Die gemeinsamen Diskussionen haben unser Vorhaben, ebenso wie mich persönlich, immer wieder aufs Neue motiviert und vorangetrieben. Auch unkonventionellen Lösungsansätzen stand Prof. Ewert immer offen gegenüber. Durch ihn erhielt ich einen besonderen Einblick in die Welt der Kinderkardiologie, der meinen beruflichen und wissenschaftlichen Werdegang zukünftig maßgeblich prägen wird.

Auch bei Prof. Dr. Georg Hoffmann („Georg“), Prof. Dr. Stefan Holdenrieder und Prof. Dr. Frank Klawonn („Frank“) möchte ich mich für die zahlreichen Gedankenaustausche, interessanten Debatten, statistischen Kniffe und die großartige Zusammenarbeit bedanken. Ich bin mir sicher, dass noch viele gemeinsame Projekte folgen werden!

Ein besonderer Dank gilt meinem Vater Herbert (Prof. Dr. Herbert Palm – Physiker), der mich die korrekte wissenschaftliche Arbeitsweise gelehrt und mir als Ansprechpartner Tag und Nacht zur Verfügung gestanden hat. Auch meiner Mutter Iris möchte ich für ihre tatkräftige Unterstützung, ihr großes Interesse und Mitgefühl in Phasen der Resignation von ganzen Herzen danken.

Mein weiterer Dank gilt meinem Bruder Nicolai und meinem besten Freund Alex, weil sie sich stets für mein Promotionsvorhaben interessierten, gute Ideen einbrachten und immer ein offenes Ohr für mich hatten.

Abschließend, und mit besonderer Würdigung, möchte ich mich bei meinem Sohn Leon für seine stets liebevolle Art, gute Laune, sein Verständnis und seine Geduld bedanken, ohne die es mir nicht möglich gewesen wäre, dieses Projekt abzuschließen.

Appendix

Ergänzende Inhalte

Biomarker (Einheit)	Probe	Verteilung	Referenzintervalle (RI)
Hämoglobin (g/dL)	EDTA	normalverteilt	Geburt bis 1 Monat: 13,0-20,0 g/dL 1 Monat bis 1 Jahr: 11,0-17,0 g/dL 1 bis 10 Jahre: 11,0-15,0 g/dL 10 bis 16 Jahre: 12,0-16,0 g/dL (♂) / 11,5-15,0 g/dL (♀) 16 bis 18 Jahre: 13,0-16,5 g/dL (♂) / 11,0-14,0 g/dL (♀)
Hämatokrit (%)	EDTA	normalverteilt	Geburt bis 3 Wochen: 40-65% 4 bis 7 Wochen: 38-50% 2 Monate bis 1 Jahr: 35-45% 1 bis 15 Jahre: 32-45% 16 bis 18 Jahre: 40-46% (♂) / 36-43% (♀)
Natrium (mmol/L)	Serum	normalverteilt	Geburt bis 1 Jahr: 130-146 mmol/L 1 bis 14 Jahre: 130-145 mmol/L 14 bis 18 Jahre: 135-145 mmol/L
Kalium (mmol/L)	Serum	normalverteilt	Geburt bis 1 Jahr: 3,7-5,9 mmol/L 2 bis 14 Jahre: 3,7-5,0 mmol/L 15 bis 123 Jahre: 3,8-5,0 mmol/L
Kreatinin (mg/dL)	Serum	lognormalverteilt	Geburt bis 1 Tag: 0,42-0,92 mg/dL 1 bis 2 Tage: 0,36-0,78 mg/dL 2 bis 3 Tage: 0,33-0,70 mg/dL 3 bis 4 Tage: 0,31-0,66 mg/dL 4 bis 5 Tage: 0,28-0,62 mg/dL 5 bis 6 Tage: 0,27-0,60 mg/dL 6 bis 7 Tage: 0,26-0,58 mg/dL 1 bis 4 Wochen: 0,2-0,5 mg/dL 1 Monat bis 1 Jahr: 0,2-0,4 mg/dL 2 bis 7 Jahre: 0,2-0,5 mg/dL 7 bis 15 Jahre: 0,3-0,7 mg/dL 15 bis 18 Jahre: 0,6-1,3 mg/dL (♂) / 0,6-1,2 mg/dL (♀)
ALT (U/L)	Serum	lognormalverteilt	Geburt bis 1 Monat: 1-50 U/L 1 Monat bis 1 Jahr: 1-60 U/L 1 bis 14 Jahre: 1-30 U/L 15 bis 18 Jahre: 10-50 U/L (♂) / 10-35 U/L (♀)
CRP (mg/L)	Serum	lognormalverteilt	Geburt bis 1 Tag: 0,1-0,6 mg/L 2 bis 7 Tage: 0,1-1,6 mg/L 8 Tage bis 1 Jahr: 0,1-5,0 mg/L 1 bis 18 Jahre: 0,1-5,0 mg/L

Tabelle 11: Basisdaten zu den verwendeten Biomarkern (neben NT-proBNP) mit Angabe der altersabhängigen Referenzintervalle laut Hersteller.

Publikation I

DE GRUYTER

Clin Chem Lab Med 2020; aop

Jonas Palm*, Georg Hoffmann, Frank Klawonn, Oktay Tutarel, Herbert Palm, Stefan Holdenrieder and Peter Ewert

Continuous, complete and comparable NT-proBNP reference ranges in healthy children

<https://doi.org/10.1515/cclm-2019-1185>

Received November 16, 2019; accepted March 8, 2020

$$Z\log_{\text{NT-proBNP}} = \frac{\log x + 0.512 \cdot \log t - 3.417}{1.489 + 0.014 \cdot \log t} - 3.92$$

Abstract

Background: NT-proBNP is one of the most important biomarkers for the diagnosis and risk assessment of heart failure in adults. Age- and gender-independent reference intervals (RIs) have been reported. In contrast, RIs in children are strongly age-dependent, do not exist for all ages and reveal a right-skewed distribution. Accordingly, no common Z-score can be formed and a cross-age interpretive method, so far, is missing.

Methods: Within the paper on hand, new evaluation techniques are applied to already published NT-proBNP study results and additionally to newly gained data. Upper limits (ULs), lower limits (LLs) and 50th percentiles are tested for power-like behavior as a function of age using linear regression analysis. Functions for continuous RIs are derived and reference limits are calculated on a per day basis. A corresponding Zlog formula is deduced and its usefulness is stated in two clinical examples.

Results: The power-like behavior of NT-proBNP concentration from birth to 18 years is demonstrated. With age in days t and measured NT-proBNP value x in pg/mL, an age-specific Zlog value may directly be calculated using the equation:

Conclusions: Using formulas for UL and LL, continuous RIs from 0 to 18 years may be obtained. Continuity corresponds to physiological changes in the body much better than discrete RIs. With the advent of an NT-proBNP-specific Zlog value, a cross-age Z-score equivalent is providing an easy interpretation aid in everyday pediatric practice. This new approach allows to identify clinical worsening much better, sooner and more clearly than previous absolute values.

Keywords: age-dependent; children; clinical chemistry; NT-proBNP; pediatric cardiology; reference values; zlog value.

Introduction

The physiologically inactive BNP fragment NT-proBNP has a low molecular weight of 8.5 kDa, is very stable in blood and can easily be measured with commercial immunoassays [1]. The mechanisms of its release into and removal from the circulation are manifold. From a diagnostic point of view, its secretion from cardiomyocytes upon dilatation of the cardiac chambers, e.g. due to congenital or acquired heart diseases, and its elimination via kidneys are the most significant pathways [2].

As a consequence, BNP and NT-proBNP are most frequently used for the diagnosis and risk assessment of heart failure (HF) in adults [1, 3]. An age- and gender-independent upper limit (UL) of 300 pg/mL ($\hat{=}$ ng/L) has been reported to rule out acute HF [3]. In contrast to its well-established diagnostic power in adults, reference values for neonates, infants and children are widely varying. Thus, so far, the clinical relevance of NT-proBNP for children is limited [2]. Nevertheless, various indications of promising applications in children with congenital and acquired heart diseases were found [2]. In order to identify pathological values, the knowledge and easy identification of reference intervals (RIs), however, are of crucial relevance.

In one of the most detailed studies, Nir et al. reported the age-dependency dynamics of NT-proBNP level from

*Corresponding author: Jonas Palm, Department of Congenital Heart Disease and Paediatric Cardiology, German Heart Centre Munich, Technical University of Munich, Lazarettstraße 36, D-80636 Munich, Germany, E-mail: palmj@dhm.mhn.de. <https://orcid.org/0000-0003-1952-0631>

Georg Hoffmann and Stefan Holdenrieder: Institute of Laboratory Medicine, German Heart Centre Munich, Technical University of Munich, Munich, Germany

Frank Klawonn: Biostatistics, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany; and Ostfalia University of Applied Sciences, Department of Computer Science, Wolfenbüttel, Germany

Oktay Tutarel and Peter Ewert: Department of Congenital Heart Disease and Paediatric Cardiology, German Heart Centre Munich, Technical University of Munich, Munich, Germany

Herbert Palm: University of Applied Sciences Munich, Department of Electrical Engineering and Information Technology, Munich, Germany

birth to adolescence. Data within the interval from 12 to 30 days and the 2.5th percentile of RIs, however, are lacking [4]. Derivation of a common Z-score NT-proBNP reference for continuous age-related usage in pediatrics so far is missing. Distributions within the discrete RIs turned out to follow a normal behavior only after logarithmization [4].

In the following, reference values as given by Nir et al. will be exploited to gain continuous, complete and comparable NT-proBNP reference ranges in healthy children. Thereby, we will be able to (a) determine the 2.5th percentile (symmetric to the 97.5th percentile), (b) derive continuous, age-dependent RIs on a daily basis, complementing the lacking interval from 12 to 30 days [4], (c) apply the Zlog value [5] for age-independent interpretation of NT-proBNP values and (d) show the superiority of Zlog over absolute values in two clinical examples.

Materials and methods

Calculation of lower limits and power-like behavior

Applying the logarithm function to NT-proBNP reference values is used to attain a normal distribution, as already demonstrated by Nir et al. [4]. Thereby, logarithmic mean and logarithmic median are equal and referred to as logarithmic 50th percentile below. It is calculated by obtaining the average from logarithms of the 5th and 95th percentiles:

$$\log 50\%tile = \frac{\log 5\%tile + \log 95\%tile}{2}$$

By reflecting the 97.5th percentile (UL) logarithm on logarithmic 50th percentile, the 2.5th percentile logarithm for each age group is obtained, representing the symmetric lower limit (LL) logarithm to its 97.5th correspondent:

$$\log 2.5\%tile = \log 50\%tile - (\log 97.5\%tile - \log 50\%tile)$$

Using 10 as common logarithm base, the inverse function then yields the actual NT-proBNP concentration in pg/mL:

$$\text{NT-proBNP}_{2.5\%tile} = 10^{\log 2.5\%tile}$$

The age-dependent dynamics of NT-proBNP is tested against the hypothesis of power-like behavior of the type

$$c(t) = c_0 \cdot t^{-a} \quad (1)$$

where $c(t)$ implies the NT-proBNP concentration as a function of time t , equaling age in days. It depends on the (theoretical “moment of birth”) concentration c_0 and $-a$, the decline characteristic, negative, constant coefficient.

The power-like behavior as indicated in Eq. 1 is tested by its logarithmic transformation to a linear equation:

$$y = c_0 - a \cdot x$$

where y equals $\log c(t)$ and x equals $\log t$. The double-logarithmic representation, therefore, allows us to test the power-like behavior of the NT-proBNP concentration age dependency via a linear relationship between $\log c(t)$ and $\log t$.

Statistical analysis

At first, logarithms of 97.5th (UL), 50th (median) and 2.5th percentiles (LL) according to Nir et al. [4] are calculated. Next, the UL and LL of each age interval are logarithmized and their mean value is taken to calculate $\log t$. Thus, $\log t$ in double-logarithmic representation is located in the middle of each age interval. For the LL of the first age interval not day 0 (birth) but day 1 is used, as the highest NT-proBNP concentration is not reached on the day of birth [4, 6]. Subsequently, linear regression analysis is performed for $\log 97.5\%tile$, $\log 50\%tile$ and $\log 2.5\%tile$ in dependency of $\log t$, weighted by the number of patients according to Nir et al. [4]. Using the derived intercept $\log c_0$ and the slope a for the linear equation $y = c_0 - a \cdot x$, continuous RI boundaries are derived as a function of age. Finally, straight lines with 95% confidence interval (CI) for UL and LL equaling $y = c_0 - a \cdot x$ are presented in a chart together with UL and LL of respective age groups. Additionally, the corresponding coefficients of determination are calculated. A p-value <0.05 is considered statistically significant.

For transformation into absolute, non-logarithmic UL and LL of NT-proBNP concentration, the derived equations are powered to base 10. In order to demonstrate the credibility of the continuous UL and LL and, furthermore, complement the so far missing RI from 12 to 30 days, formulas are applied to different ages and compared to 97.5th percentiles according to Nir et al. [4].

All statistical analyses were performed using IBM SPSS version 24 and RStudio version 1.2.1335.

Derivation of an NT-proBNP-specific Zlog value

Due to the right-skewed distribution of NT-proBNP, the Zlog value according to Hoffmann et al. is applied [5]. Analogous to the common Z-score, it requires UL and LL of the respective age-related RI. Assuming a linear relationship in logarithmic representation, straight-line equations for continuous, logarithmic UL and LL may be inserted. The transformed RI then is standardized for all ages and located between -1.96 and $+1.96$ [7, 8].

Data collection and demonstration of Zlog application

A database query at the German Heart Center, Munich, Germany has been performed to identify all infants, children and adolescents for records on measured NT-proBNP concentration in the time period between January 1, 2011 and December 31, 2018. Patients older than 18 years or with incomplete laboratory results were excluded. For standard evaluations, only first value measurements were utilized. Graphical representation of absolute NT-proBNP values, derived from the database query, and their corresponding Zlog values was performed for all these patients.

In order to find a suitable example to demonstrate the Zlog value, the database was queried to reveal cases with a multitude of

consecutive measurements in toddlers with age less than 2 years. Reviewing the corresponding patients' medical history, finally, a single patient was chosen. For this selected patient, a chart was drawn combining the echocardiographically measured ejection fraction (EF) of the heart with NT-proBNP absolute values and corresponding Zlog values, respectively.

Blood was collected in tubes containing lithium heparin using standard collection techniques during hospitalization in inpatients, or on the day of clinical visit in outpatients. NT-proBNP was assessed using the Roche Diagnostics Elecsys proBNP II assay (monoclonal antibodies) on a cobas e 411 system. The assay ranges from 5 to 35,000 pg/mL. Concentrations above 35,000 pg/mL (by using dilution) were limited at 35,000 pg/mL.

Results

Derivation of continuous reference intervals

In addition to the different age intervals and their corresponding number of patients as provided by Nir et al. [4], Table 1 shows the calculated mean values of logarithmized age intervals ($\log t$). Furthermore, the logarithms of

the 5th and 95th percentiles and their obtained average $\log 50\%$ tile are depicted.

In Table 2, logarithmic values of 2.5th percentiles are determined by reflecting logarithm of 97.5th percentiles on logarithmic 50th percentile. Using 10 as common logarithm base, logarithmic 97.5th and 2.5th percentiles yield the actual NT-proBNP concentration in pg/mL for UL and LL.

Table 3 provides the findings of weighted linear regression analysis, testing NT-proBNP age dependency against the hypothesis of power-like behavior. Within the 95% CI, the results reveal a significant correlation with $p < 0.001$ for the logarithms of 2.5th, 50th and 97.5th percentiles with the logarithm of age in days. Consequently, we maintain the assumption of power-like behavior. Furthermore, intercept c_0 and slope a were evaluated by regression analysis. For logarithms of UL, LL and logarithmic median, the following equations are obtained:

1. Logarithmic LL (2.5th percentile): $y = 2.672 - 0.519 \cdot x$
2. Logarithmic median (50th percentile): $y = 3.417 - 0.512 \cdot x$
3. Logarithmic UL (97.5th percentile): $y = 4.161 - 0.505 \cdot x$

Table 1: Different age intervals with their corresponding number of patients as derived from Nir et al. [4].

Age interval	Number of patients	Mean of logarithmized age interval ($\log t$)	$\log 5\%$ tile	$\log 95\%$ tile	$\log 50\%$ tile
0–2 days	43	0.2	2.5	4.1	3.3
3–11 days	84	0.8	2.4	3.8	3.1
>1 month–1 year	50	2.0	1.6	2.8	2.2
>1–2 years	38	2.7	1.6	2.6	2.1
>2–6 years	81	3.1	1.4	2.5	1.9
>6–14 years	278	3.5	1.0	2.2	1.6
>14–18 years	116	3.8	0.8	2.2	1.5

$\log t$ is calculated by taking the mean value of logarithmized upper and lower age limits of each group. Logarithmic 50th percentile of NT-proBNP is derived by obtaining the average of logarithmic 5th and 95th NT-proBNP percentiles according to Nir et al. [4].

Table 2: Logarithmic NT-proBNP values of 2.5th percentiles are determined by reflecting logarithms of 97.5th NT-proBNP percentiles on derived logarithmic 50th percentiles of NT-proBNP (Table 1).

Age interval	$\log 97.5\%$ tile	$\log 50\%$ tile	$\log 2.5\%$ tile	97.5%tile, pg/mL	50%tile, pg/mL	2.5%tile, pg/mL
0–2 days	4.1	3.3	2.5	13,222	1962	291
3–11 days	3.8	3.1	2.4	6502	1248	239
>1 month–1 year	3.0	2.2	1.4	1000	155	24
>1–2 years	2.8	2.1	1.4	675	127	24
>2–6 years	2.5	1.9	1.3	327	82	20
>6–14 years	2.4	1.6	0.8	242	40	6
>14–18 years	2.3	1.5	0.7	207	31	5

Using 10 as common logarithm base, logarithmic 97.5th, 50th and 2.5th percentiles yield the actual NT-proBNP concentration in pg/mL for upper limit, median and lower limit.

Table 3: Results of multivariate regression analysis, weighted by the number of patients (Table 1) according to Nir et al. [4], with 95% confidence interval (CI).

Dependent variable	Parameter	Regression coefficient B	95% CI		p-Value
			Lower bound	Upper bound	
log 2.5%tile	Intercept	2.672	2.648	2.696	<0.001
	log t	-0.519	-0.527	-0.511	<0.001
log 50%tile	Intercept	3.417	3.404	3.430	<0.001
	log t	-0.512	-0.517	-0.508	<0.001
log 97.5%tile	Intercept	4.161	4.151	4.172	<0.001
	log t	-0.505	-0.509	-0.502	<0.001

Logarithmic upper limit, lower limit and median are dependent variables on logarithmic age in days log t (independent variable). Due to highly significant results ($p < 0.001$), power-like behavior may be assumed and, therefore, a linear function may be derived, using obtained regression coefficients.

with y representing the logarithmic concentration of NT-proBNP log $c(t)$ in pg/mL in dependency of x , equaling logarithmic age in days.

Figure 1 illustrates the above-evaluated linear behavior with 95% CI of logarithmic median, UL and LL as a function of logarithmic age. The corresponding coefficient of determination is $R^2 = 0.992$ for the 97.5th percentile, $R^2 = 0.988$ for the median and $R^2 = 0.960$ for the 2.5th percentile.

For the absolute, non-logarithmic calculation of UL, median and LL in pg/mL, the above-derived equations are

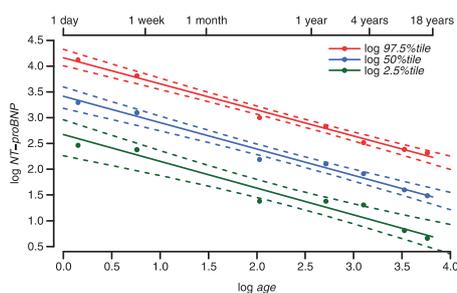


Figure 1: Correlation of 97.5th (UL), 50th (median) and 2.5th (LL) percentiles with age in days in double-logarithmic representation (solid lines).

Data points indicate these three percentiles (Table 2) for the mean of each logarithmized age interval (Table 1). For each straight line, 95% confidence interval (CI) is illustrated as well (dashed lines). The corresponding coefficient of determination is $R^2 = 0.992$ for the UL, $R^2 = 0.988$ for the median and $R^2 = 0.960$ for the LL.

substituted with $y = \log c(t)$ and $x = \log t$ and powered to base 10. This yields the following equations:

$$\text{Lower limit: } c_{2.5\%tile} = 469.9 \cdot t^{-0.519}$$

$$\text{Median: } c_{50\%tile} = 2612.2 \cdot t^{-0.512}$$

$$\text{Upper limit: } c_{97.5\%tile} = 14,487.7 \cdot t^{-0.505}$$

In Supplementary Table 1 (online), the UL and LL of absolute NT-proBNP concentration are demonstrated for different ages using these formulae and compared with the 97.5th percentile according to Nir et al. [4].

Obviously, within statistical error, NT-proBNP concentration reveals an inverse square root age dependency:

$$c_{\text{NT-proBNP}} \sim t^{-0.5} = \frac{1}{\sqrt{t}}$$

NT-proBNP-specific Zlog value

This newly gained knowledge of continuous age behavior is used to calculate logarithmic age dependencies of LL and UL NT-proBNP concentrations:

$$\log LL = \log 2.5\%tile = 2.672 - 0.519 \cdot \log t \quad (2)$$

$$\log UL = \log 97.5\%tile = 4.161 - 0.505 \cdot \log t \quad (3)$$

where t equals age in days. These equations now may directly be inserted into the Zlog formula according to Hoffmann et al. [5]:

$$\text{Zlog}_{\text{NT-proBNP}} = \frac{\log x + 0.512 \cdot \log t - 3.417}{1.489 + 0.014 \cdot \log t} \cdot 3.92 \quad (4)$$

Equation 4 shows the corresponding NT-proBNP-specific Zlog formula after simplification, which only requires the measured NT-proBNP concentration x in pg/mL and the age t in days.

Clinical example

A set of 2159 patients was queried from the hospital and laboratory information systems (Medico, Cerner Corporation and Swisslab, Nexus AG). After exclusion of 39 patients due to incomplete laboratory results, 2120 patients remained. Most of them suffered from congenital or acquired heart disease. NT-proBNP concentrations for these patients ranged from 5 to 35,000 pg/mL, and corresponding Zlog values from -2.2 to +6.9 with ages between 0 days and 18 years (6569 days). Figures 2 and 3 indicate

DE GRUYTER

Palm et al.: Continuous, complete and comparable NT-proBNP reference ranges in healthy children — 5

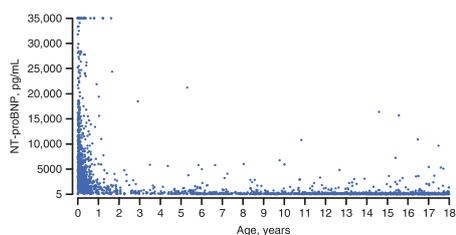


Figure 2: Absolute NT-proBNP values from a total of 2120 children and adolescents in dependency of age, queried from the laboratory information system at the German Heart Center, Munich, Germany. The vast majority of this population consists of patients with congenital or acquired heart diseases. Nevertheless, even in these patients, a strongly non-linear behavior of absolute concentrations is recognizable and, therefore, supports our paper's findings.

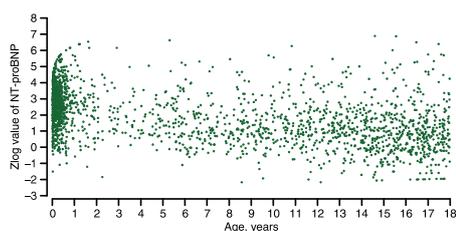


Figure 3: Corresponding Zlog values of NT-proBNP as illustrated in Figure 2, calculated by NT-proBNP-specific Zlog formula (Eq. 4). As mentioned earlier, the vast majority of these patients suffer from congenital or acquired heart diseases. Thus, it is hardly surprising that many patients reveal elevated Zlog values (above +1.96), especially at young ages. The following slight decrease in Zlog levels may be explained by an emphasis on severe heart diseases during infancy. With increasing age and accompanying treatments, the portion of patients with repaired condition increases as well.

absolute NT-proBNP concentrations and their obtained Zlog values (according Eq. 4) in dependence of the patients' ages.

The individual selected patient was female and diagnosed with dilated cardiomyopathy. The existing observation period covers her first year of life with three hospitalizations. The recorded data comprised a total of 66 NT-proBNP measurements plus seven echocardiographic findings with a measured EF obtained from medical letters. Listing for cardiac transplantation was initiated for the patient at the age of 11 months. The median and interquartile range (IQR) of absolute NT-proBNP concentrations and corresponding Zlog values were as follows:

1. First hospitalization: 9995 pg/mL (IQR 8013–12,500) and 3.5 (IQR 3.3–4.0)
2. Second hospitalization: 8790 pg/mL (IQR 7700–12,100) and 4.2 (IQR 4.1–4.6)
3. Third hospitalization: 13,300 pg/mL (IQR 10,115–13,700) and 5.1 (IQR 4.8–5.2)

All existing values during the aforementioned three hospital stays are depicted in Figures 4 (absolute NT-proBNP concentration) and 5 (corresponding Zlog values). Both

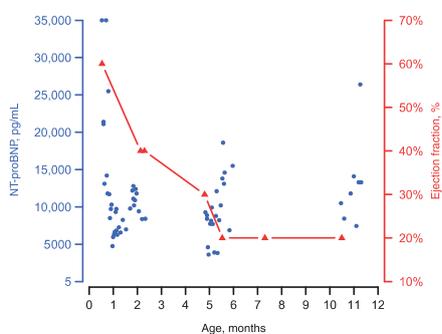


Figure 4: Course of absolute NT-proBNP concentration and ejection fraction (EF) in a single child with dilated cardiomyopathy within the first year of life. Listing for heart transplantation was initiated at an age of 11 months. Although there is a significant decrease in EF (worsening of the heart's pumping function), absolute NT-proBNP concentration seems to remain constant or even is slightly decreasing without EF correlation.

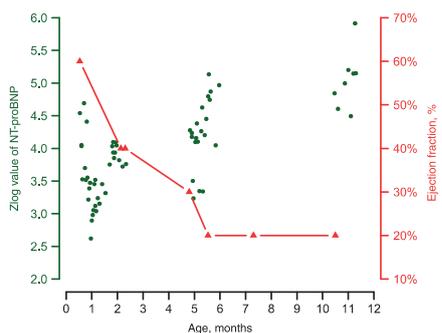


Figure 5: Trend of corresponding Zlog values and EF from a single child with dilated cardiomyopathy as described in Figure 4. In contrast, transformed NT-proBNP values clearly reflect the patient's worsening condition.

charts, additionally, contain the patient's recorded EFs. Initially, EF was at a level of 60% (normal heart pump function) steadily decreasing to 20% (highly restricted pumping function).

Discussion

As shown in several studies, highest NT-proBNP concentrations were found within the postnatal period [6, 9]. During the first year of life, there is a rapid decline, followed by a slight but steady decrease in NT-proBNP concentration during childhood [4, 10, 11]. During adolescence, concentration converges to adult reference values at an age of approximately 18 years [4].

NT-proBNP dynamics, especially in the first year of life, may probably be attributed essentially to two main influencing factors: On the one hand, postnatal adaptation of fetal circulation with beginning perfusion of the lungs and resulting changes of intracardiac pressures causes a strong increase in secretion [2]. Additionally, in children with congenital or acquired heart diseases, secretion of NT-proBNP by cardiomyocytes might even be greatly increased depending on the corresponding hemodynamics [12]. On the other hand, renal elimination plays an essential role [2]. Immediately after birth, renal function is restricted and evolves with time, especially in the first months of life [13, 14]. Most, but not every study investigating NT-proBNP reference values in children was included.

In 2009, Nir et al. summarized previously determined reference ranges of NT-proBNP during childhood in a widely acknowledged review [4]. It covers four studies with clinically healthy children (without cardiac diseases) of various ages with NT-proBNP measured by the same assay (Roche Diagnostics Elecsys proBNP assay) [6, 10, 11, 15]. The original assay used contained polyclonal antibodies, whereas nowadays monoclonal antibodies (Roche Diagnostics Elecsys proBNP II assay) are commonly utilized for NT-proBNP measurement. In a direct comparison, this method shows slightly lower results (on average -2.5%) [16]. In accordance with Prontera et al., therefore, we considered the transferability of the RIs obtained from Nir et al. to those of the new, monoclonal assay as justifiable. In total, 690 patients were used to generate reference ranges for almost any age groups with one exception, the missing interval of 12–30 days. For evaluated age ranges, 5th, 95th, 97.5th percentiles and median were determined. Within these age groups, Nir et al. demonstrated NT-proBNP to reveal a right-skewed distribution. Only after logarithmization values follow a normal distribution [4].

Whether or not there is a difference in NT-proBNP concentrations between boys and girls is discussed controversially. Three studies did not find any sex-specific discrepancy [10, 11, 15], whereas one study found such a difference starting at the age of 10 years [6]. The joint evaluation by Nir et al. including the aforementioned four studies found a significant difference in medians between girls and boys (56.5 pg/mL and 38 pg/mL, respectively; $p=0.002$) at the age of 10–14 years. For the upper and lower reference limit, however, no difference between boys and girls could be demonstrated for any age interval [4].

Due to the artifacts of discretization and a strong decline dynamics, especially within the first year of life, NT-proBNP RIs are only partially usable and difficult to interpret in everyday pediatric practice. Derivation of a common Z-score as an interpretation aid might be conceivable, but is inadmissible for at least one reason: A Z-score application presumes, on the one hand, a normal distribution (satisfiable by taking its logarithm) and, on the other hand, symmetrical reference ranges [8]. The only symmetric RI, however, as indicated by Nir et al. constitutes the 5th and 95th percentiles, comprising 90% of healthy individuals. In order to cover 95% of healthy individuals, the 2.5th percentile (LL) apart from the given 97.5th percentile (UL) is required. Furthermore, division into discrete age intervals partially results in significant discontinuities, e.g. in a reduction of the 97.5th percentile from 13,222 to 6502 pg/mL (>50%) from day 2 to 3 [4]. Obviously, this abrupt change does not correspond to an equivalent physiological alteration. Continuous RIs, as proposed by several authors [17, 18] already, are, therefore, strongly preferable.

Our calculation of continuous, complete and comparable NT-proBNP reference ranges is adapted from the data as published in the review of Nir et al. [4]. Based on the double-logarithmic evaluation (Figure 1), a power-like behavior of NT-proBNP concentration as a function of age from 0 to 18 years could be assumed. So far, only unspecific non-linear behavior was stated by Rauh and Koch [15] and Schwachtgen et al. [6]. Using weighted regression analysis, power-like behavior as a function of age for the 97.5th (UL), 50th (median) and derived 2.5th percentiles (LL) was proved: Both UL ($p<0.001$, $R^2=0.992$) and LL ($p<0.001$, $R^2=0.960$) as well as the median ($p<0.001$, $R^2=0.988$) showed highly significant results (Table 3) and a strong correlation to respective discrete age groups (Figure 1). Thus, the assumption of power-like behavior of NT-proBNP from birth to 18 years was maintained.

Based on this newly gained knowledge of power-like behavior and using obtained regression coefficients,

formulas for UL, median and LL were derived. Depending on the age in days t , for the UL the equation $c_{97.5\%ile} = 14,488 \cdot t^{-0.505}$, for the median $c_{50\%ile} = 2612 \cdot t^{-0.512}$ and for the LL $c_{2.5\%ile} = 470 \cdot t^{-0.519}$ were set up. For the first time, these formulas allow determination of daily based, continuous RIs of NT-proBNP from the first day after birth to 18 years. Based on this continuity, they are more physiological and thus less error-prone than the previously used discrete RIs. When comparing the derived continuous UL and LL with the original data of Nir et al. [4] (Supplementary Table 1), our continuous limits seem to be highly reliable throughout the entire childhood. Additionally, the missing interval from 12 to 30 days [4] can now be closed.

Due to the pronounced age dynamics of NT-proBNP, a common Z-score is considered a convenient aid for interpretation in everyday pediatric practice. Because of the right-skewed distribution, however, its formation is inadmissible. So far, there has been no uniform base for the interpretation of NT-proBNP values. By application of the Zlog value, a Z-score equivalent for non-normally distributed biomarkers, we are the first to offer such a potential. Phrasing formulas for the UL and LL, we derived an NT-proBNP-specific formula for Zlog value (Eq. 4). For its calculation, only measured NT-proBNP concentration in pg/mL and age in days are required. The value obtained, just like a common Z-score, is the multiple of standard deviations from the age-dependent median. It depends on the age-specific UL and LL, while the interval from -1.96 to $+1.96$ is considered normal. The approach of Zlog application to NT-proBNP also applies well to other, especially age-dependent biomarkers such as AFP or bilirubin. For these, the same interpretation criteria apply as described earlier.

Using two clinical examples, absolute values of NT-proBNP and corresponding Zlog values were compared. In a first step, absolute and Zlog-transformed NT-proBNP concentrations of all patients received from the database query were illustrated (Figures 2 and 3). Most of them suffered from congenital or acquired heart disease. Their data, therefore, must not be used to derive RIs. Nonetheless, even in these patients, a strongly non-linear behavior of absolute values is recognizable and, therefore, supports our paper's findings (Figure 2). The slight decrease in Zlog levels (Figure 3) may be explained by an emphasis on severe heart diseases during infancy. With increasing age and accompanying treatments, the portion of patients with repaired condition increases as well. Considering absolute concentration values (Figure 2), it is not directly possible to distinguish between increased and normal concentration levels due to the effect of age dependency. In contrast, the UL in the Zlog representation is $+1.96$

irrespective of age. Therefore, in Zlog representation, physiological values may be easily discriminated from pathological ones (Figure 3).

The selected patient's absolute NT-proBNP concentration and her corresponding Zlog values are depicted in Figures 4 and 5 together with measured EFs, respectively. During her first year of life, there is a significant decrease in the EF level from 60% (normal pumping function of the heart) to 20% (severely restricted pumping function). Representation of absolute NT-proBNP values (Figure 4) does not suggest this clinical course. While her absolute NT-proBNP values seem to remain constant or even slightly decreasing without EF correlation, transformed NT-proBNP values (Figure 5) clearly reflect the patient's worsening condition. In contrast to absolute NT-proBNP values, only their Zlog transformation enables an interpretation as a clinical relevant heart overload indicator. Based on the Zlog approach, clinical worsening may be recognized in advance with a strongly increased relevance.

In addition to the benefits of practical applications, particularly there is an advantage for future studies investigating NT-proBNP in childhood. Populations no longer need to be subdivided into subgroups to account for age-related RIs. In further studies, for example, cross-age Zlog decision values for different hemodynamic types or diagnoses might be determined. Within these groups, Zlog value of NT-proBNP may identify patients with an increased risk of major adverse cardiovascular events (MACE). A close monitoring of these high-risk patients and a resulting early treatment could significantly improve the prognosis of children with heart diseases.

Study limitations

The patient collective that our data is based on was not defined echocardiographically, but clinically as patients without compromised cardiovascular function. Severe heart diseases, therefore, are unlikely, but may not be excluded completely.

According to Schwachtgen and Mir et al., NT-proBNP firstly increases on the day of birth and reaches its maximum afterward [4, 6]. Consequently, derived formulas for UL, LL, median and Zlog must not be applied for the day of birth, as this value is just theoretical.

Furthermore, the formulas for UL and LL assume a power-like behavior of NT-proBNP. Therefore, a constant, continuous decrease until 18 years of age is assumed. With respect to the so far missing age interval, the mathematical model should be validated by a clinical study determining NT-proBNP reference values for children

12–30 days of age. We are confident, however, that such a study would most likely confirm our predicted values.

Conclusions

Reference ranges of NT-proBNP during childhood according to Nir et al. were examined for analytical correlation of the NT-proBNP concentration as a function of age within the range from 0 to 18 years. The power-like behavior could be proven and quantitatively evaluated. Based on this, continuous and, thereby, complete references for NT-proBNP limits were derived as a function of age. For the first time, this permits to determine physiological, continuous UL and LL on a daily basis. Thereby, the gap of the so far missing RI from 12 to 30 days was closed by extrapolation. The superiority of the Zlog value over absolute NT-proBNP concentrations was demonstrated. Our proposed Zlog value, for the first time, offers a comparable and age-independent NT-proBNP interpretation base from birth to 18 years of age with a strong clinical relevance.

Acknowledgments: We would like to thank everyone who contributed to this study, in particular, Ms. Laura Wiegand for performing the database query.

Author contributions: All the authors have accepted responsibility for the entire content of this submitted manuscript and approved submission.

Research funding: None declared.

Employment or leadership: None declared.

Honorarium: None declared.

Competing interest: All authors have no conflict of interest to declare. The funding organization played no role in the study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; or in the decision to submit the report for publication.

References

- Clerico A, Passino C, Franzini M, Emdin M. Cardiac biomarker testing in the clinical laboratory: where do we stand? General overview of the methodology with special emphasis on natriuretic peptides. *Clin Chim Acta* 2015;443:17–24.
- Cantinotti M, Walters HL, Crocetti M, Marotta M, Murzi B, Clerico A. BNP in children with congenital cardiac disease: is there now sufficient evidence for its routine use? *Cardiol Young* 2015;25:424–37.
- McCullough PA, Kluger AY. Interpreting the wide range of NT-proBNP concentrations in clinical decision making. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:1201–3.
- Nir A, Lindinger A, Rauh M, Bar-Oz B, Laer S, Schwachtgen L, et al. NT-pro-B-type natriuretic peptide in infants and children: reference values based on combined data from four studies. *Pediatr Cardiol* 2009;30:3–8.
- Hoffmann G, Klawonn F, Lichtinghagen R, Orth M. The zlog value as a basis for the standardization of laboratory results. *LaboratoriumsMedizin* 2017;41:23–32.
- Schwachtgen L, Herrmann M, Georg T, Schwarz P, Marx N, Lindinger A. Reference values of NT-proBNP serum concentrations in the umbilical cord blood and in healthy neonates and children. *Z Kardiol* 2005;94:399–404.
- Martinez-Millana A, Hulst JM, Boon M, Witters P, Fernandez-Llatas C, Assaiceira I, et al. Optimisation of children z-score calculation based on new statistical techniques. *PLoS One* 2018;13:e0208362.
- DeVore GR. Computing the Z score and centiles for cross-sectional analysis: a practical approach. *J Ultrasound Med* 2017;36:459–73.
- Mir TS, Laux R, Hellwege HH, Liedke B, Heinze C, von Buelow H, et al. Plasma concentrations of aminoterminal pro atrial natriuretic peptide and aminoterminal pro brain natriuretic peptide in healthy neonates: marked and rapid increase after birth. *Pediatrics* 2003;112:896–9.
- Albers S, Mir TS, Haddad M, Læer S. N-Terminal pro-brain natriuretic peptide: normal ranges in the pediatric population including method comparison and interlaboratory variability. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:80–5.
- Nir A, Bar-Oz B, Perles Z, Brooks R, Korach A, Rein A. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide: reference plasma levels from birth to adolescence. Elevated levels at birth and in infants and children with heart diseases. *Acta Paediatr* 2004;93:603–7.
- Holmgren D, Westerlind A, Lundberg PA, Wähländer H. Increased plasma levels of natriuretic peptide type B and A in children with congenital heart defects with left compared with right ventricular volume overload or pressure overload. *Clin Physiol Funct Imaging* 2005;25:263–9.
- Guignard J, Torrado A, Da Cunha O, Gautier E. Glomerular filtration rate in the first three weeks of life. *J Pediatr* 1975;87:268–72.
- Otukesh H, Hoseini R, Rahimzadeh N, Hosseini S. Glomerular function in neonates. *Iran J Kidney Dis* 2012;6:166–72.
- Rauh M, Koch A. Plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in a control population of infants and children. *Clinical Chem* 2003;49:1563–4.
- Prontera C, Zucchelli GC, Vittorini S, Storti S, Emdin M, Clerico A. Comparison between analytical performances of polyclonal and monoclonal electrochemiluminescence immunoassays for NT-proBNP. *Clin Chim Acta* 2009;400:70–3.
- Asgari S, Higgins V, McCudden C, Adeli K. Continuous reference intervals for 38 biochemical markers in healthy children and adolescents: comparisons to traditionally partitioned reference intervals. *Clin Biochem* 2019;73:82–9.
- Zierk J, Arzideh F, Haecckel R, Cario H, Frühwald MC, Groß HJ, et al. Pediatric reference intervals for alkaline phosphatase. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:102–10.

Supplementary Material: The online version of this article offers supplementary material (<https://doi.org/10.1515/cclm-2019-1185>).

Publikation II

JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY
© 2021 BY THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY FOUNDATION
PUBLISHED BY ELSEVIER

VOL. 78, NO. 19, 2021

Predicting Major Adverse Cardiovascular Events in Children With Age-Adjusted NT-proBNP



Jonas Palm, MD,^a Stefan Holdenrieder, MD, PhD,^b Georg Hoffmann, MD, PhD,^b Jürgen Hörer, MD, PhD,^{c,d} Ruibing Shi, MSc,^e Frank Klawonn, PhD,^{e,f} Peter Ewert, MD, PhD^{a,g}

ABSTRACT

BACKGROUND N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) is frequently used as a valuable prognostic biomarker in cardiac diseases. In children, however, it has not been established because of its strong age dependency. To overcome this obstacle, we recently introduced the zlog value of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (zlog-proBNP) as an age-adjusted reference.

OBJECTIVES This study evaluates the prognostic power of zlog-proBNP for the occurrence of major adverse cardiovascular events (MACE) throughout childhood in patients with congenital heart diseases (CHD).

METHODS A total of 910 children with CHD (median age 5 months; range 0.0-18.0 years) were included. MACE was defined as death, resuscitation, mechanical circulatory support, or hospitalization caused by cardiac decompensation. Because the physiological NT-proBNP concentration decreases significantly during childhood, zlog values were applied for an age-independent evaluation.

RESULTS MACE occurred in 138 children during a median follow-up of 6 months (range 1 day to 7.6 years). High zlog-proBNP values ($>+3.0$) were most strongly associated with adverse events ($n = 93$; adjusted HR: 21.1; 95% CI: 2.9-154.2; $P < 0.001$). Among all evaluated indicators, zlog-proBNP was the best predictor for MACE (adjusted HR: 1.52; 95% CI: 1.31-1.76; $P < 0.001$) along with age and predictively superior to absolute NT-proBNP values. A cutoff value of $+1.96$ (age-independent upper limit of the physiological NT-proBNP concentration) achieved a negative predictive value of $>96\%$.

CONCLUSIONS Zlog-proBNP overcomes the strong age dependency of NT-proBNP and is a powerful prognostic marker for age-independent exclusion and prediction of MACE in children with CHD. We therefore expect zlog-proBNP to play a pivotal role in the future management of children with heart diseases. (J Am Coll Cardiol 2021;78:1890-1900)
© 2021 by the American College of Cardiology Foundation.

B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) have had a major impact on cardiovascular research and the clinical management of cardiac diseases over the last 2 decades. Both biomarkers are routinely used as valuable prognostic tools, with NT-proBNP being slightly superior in predicting the outcome of heart diseases in adults (1).



Listen to this manuscript's audio summary by Editor-in-Chief Dr Valentin Fuster on JACC.org.

From the ^aDepartment of Pediatric Cardiology and Congenital Heart Defects, German Heart Center of the Technical University Munich, Munich, Germany; ^bInstitute of Laboratory Medicine, German Heart Center of the Technical University Munich, Munich, Germany; ^cDepartment for Congenital and Pediatric Heart Surgery, German Heart Center of the Technical University Munich, Munich, Germany; ^dDivision for Congenital and Pediatric Heart Surgery, University Hospital Großhadern, Ludwig-Maximilians University, Munich, Germany; ^eBiostatistics, Helmholtz Center for Infection Research, Braunschweig, Germany; ^fInstitute for Information Engineering, Ostfalia University of Applied Sciences, Wolfenbüttel, Germany; and the ^gDZHK (German Center for Cardiovascular Research), Partner Site Munich Heart Alliance, Munich, Germany.

The authors attest they are in compliance with human studies committees and animal welfare regulations of the authors' institutions and Food and Drug Administration guidelines, including patient consent where appropriate. For more information, visit the [Author Center](#).

Manuscript received May 6, 2021; revised manuscript received August 18, 2021, accepted August 20, 2021.

ISSN 0735-1097/\$36.00

<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2021.08.056>

In contrast, data for children with heart diseases are scarce (2). First, the number of cases is limited because of ethical constraints involving children in health research and a low prevalence of pediatric heart diseases (2). Second, the major obstacle for clinical use of NT-proBNP is the extreme age dependency of physiological concentrations (3). Until the third day of life, the 97.5th percentile of NT-proBNP exceeds 13,000 pg/mL, then rapidly decreases to 1,000 pg/mL during the first month of life, and gradually converges to adult reference values until the age of 18 years (207 pg/mL) (4). Thus, absolute concentrations have to be interpreted with respect to various age-specific reference intervals. In particular, studies investigating NT-proBNP in childhood did not sufficiently consider this highly significant age dynamic. Unfortunately, this combination of a low case-load, ethical issues, and extreme age dependency considerably impeded the scientific evaluation of NT-proBNP in children.

SEE PAGE 1901

To overcome these drawbacks, we recently introduced the zlog value of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (zlog-proBNP) (5). Analogous to a z-score, zlog-proBNP indicates the number of logarithmized SDs by which the measured NT-proBNP concentration is above or below the age-specific logarithmic mean (5,6). Thus, its age-independent reference interval ranges between -1.96 and $+1.96$, and subgrouping by age to address different reference intervals is not necessary.

The aim of the present study was to evaluate the prognostic power of zlog-proBNP for the occurrence of major adverse cardiac events (MACE) in a large cohort of pediatric patients throughout the entire period of childhood.

METHODS

STUDY POPULATION. At the German Heart Center Munich, a tertiary center for pediatric heart diseases, a database query was conducted to retrospectively identify all patients with at least 1 NT-proBNP measurement between January 1, 2011, and December 31, 2017. In addition, the following biomarkers were queried: creatinine, C-reactive protein (CRP), hemoglobin, hematocrit, sodium, potassium, and alanine transaminase. All of these parameters are part of our admission laboratory.

Datasets with at least 1 missing biomarker concentration (eg, caused by insufficient sample material) were removed. The baseline was defined as the earliest point within the specified time frame when both a complete set of laboratory values and medical

records were available. Only patients with CHD under 18 years of age at the baseline were included. Patients with Fontan circulation (ie, total cavopulmonary connection) were excluded from this study.

The data were collected from the hospital information system. At baseline, the patients' age, sex, and diagnosis were recorded. Furthermore, a 30-day MACE history was evaluated, meaning that each subject was screened for adverse cardiovascular events (see endpoints) within 30 days prior to their individual baseline (eg, patients presenting because of cardiac decompensation or inpatient admissions after previous resuscitation). This is to prevent patients from being in an unstable condition at the beginning of the observation period.

The authors attest they are in compliance with human studies committees and that the study (Central Illustration) was approved by the Institutional Review Board (ethics commission) of The Technical University Munich, Munich, Germany.

ENDPOINTS. MACE was defined as follows: death (from any cause), resuscitation, necessity of mechanical circulatory support (extracorporeal membrane oxygenation or ventricular assist device), and hospital admission caused by cardiac decompensation. Because there is no common definition of cardiac decompensation in pediatrics, it was defined in this study as (at least subacute) worsening of echocardiographic functional parameters and/or worsening of heart failure symptoms requiring inpatient recompensation. Each event that had occurred since the beginning of the observation period was recorded separately, with the earliest event defining the end of the follow-up. If no MACE had occurred since the baseline, the follow-up ended with the last elective outpatient presentation or inpatient discharge from elective hospital stays.

ZLOG VALUES, ZLOG-proBNP AND OTHER BIOMARKERS. Zlog values in general are interpreted the same way as regular z-scores as they are used in pediatrics or echocardiography (eg, aortic root diameter) (7). Both measures indicate the number of SDs (σ) by which a variable (eg, a biomarker concentration) is above or below the mean value (μ), with 95% of physiological values ranging between $\mu \pm 1.96 \sigma$ (\approx mean ± 2 SD). However, zlog values operate with logarithms and therefore are suitable for non-normally distributed parameters such as NT-proBNP concentrations (6).

Zlog-proBNP in particular constitutes the zlog value of NT-proBNP, where μ and σ are expressed as a

ABBREVIATIONS AND ACRONYMS

AUC = area under the curve

CHD = congenital heart disease

CRP = C-reactive protein

MACE = major adverse cardiovascular events

NT-proBNP = N-terminal pro-B-type natriuretic peptide

ROC = receiver-operating characteristic

zlog-proBNP = zlog value of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide

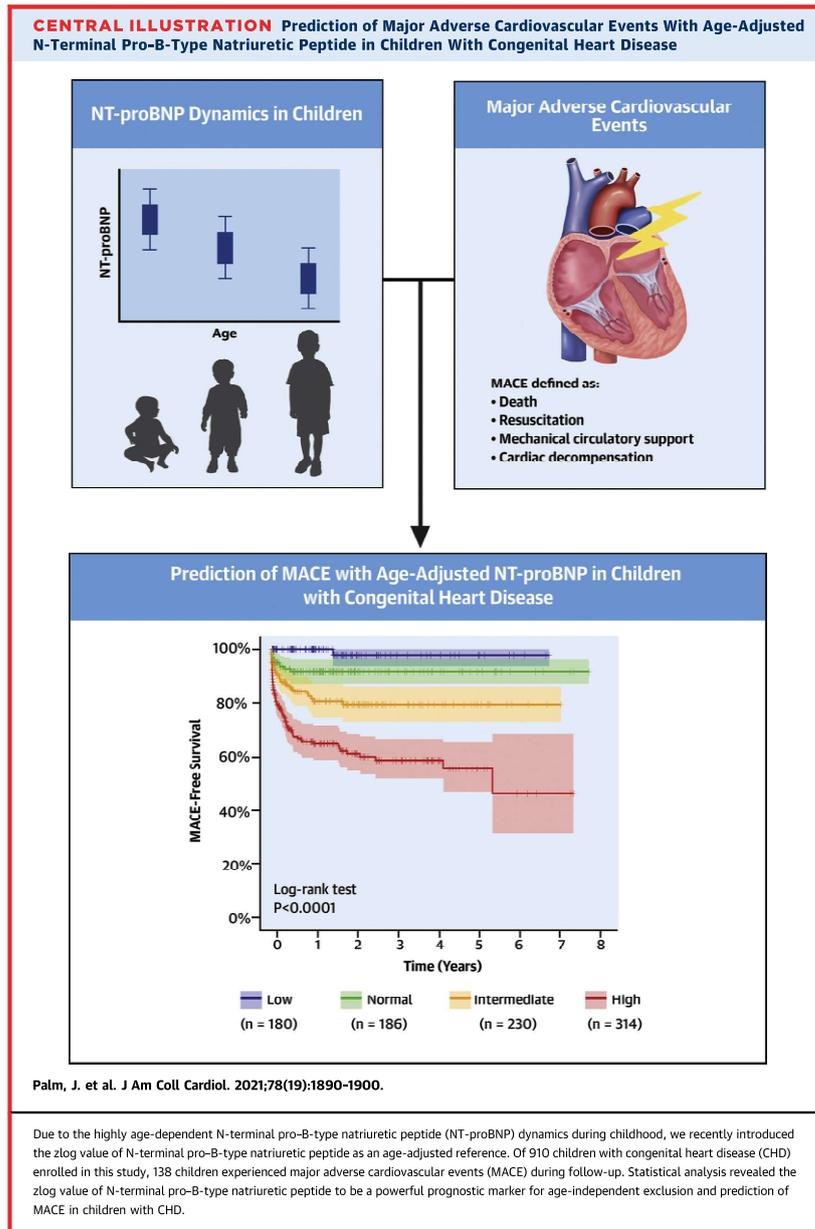


TABLE 1 Baseline Characteristics of the Study Population

	All Patients (N = 910)	zlog-proBNP Level				P Value ^a
		Low (n = 180)	Normal (n = 186)	Intermediate (n = 230)	High (n = 314)	
Zlog-proBNP range	-2.2 to +6.9	-2.2 to +1.0	+1.0 to +1.96	+1.96 to +3.0	+3.0 to +6.9	
Age, y	0.4 (0.1-8.8)	10.8 (5.1-14.9)	5.4 (0.3-13.2)	0.2 (0.1-1.8)	0.1 (0.0-0.5)	<0.001
Range	0.0-18.0	0.0-18.0	0.0-17.9	0.0-17.8	0.0-17.5	
Age group						<0.001
Newborns (birth to 4 wks)	242 (27)	14 (8)	29 (16)	73 (32)	126 (40)	
Infants (4 wks to 1 y)	291 (32)	16 (9)	46 (25)	95 (41)	134 (43)	
Kids (1 to 10 y)	165 (18)	56 (31)	39 (21)	38 (17)	32 (10)	
Adolescents (10 to 18 y)	212 (23)	94 (52)	72 (39)	24 (10)	22 (7)	
Sex						0.28
Male	509 (56)	100 (56)	113 (61)	116 (50)	180 (57)	
Female	401 (44)	80 (44)	73 (39)	114 (50)	134 (43)	
History of MACE ^b						<0.001
Positive	61 (7)	2 (1)	2 (1)	21 (9)	36 (11)	
Negative	849 (93)	178 (99)	184 (99)	209 (91)	278 (89)	
Laboratory						
Hemoglobin, g/dL	13.3 (12.1-14.8)	13.7 (12.6-15.1)	13.5 (12.4-14.6)	13.2 (11.8-14.6)	13.0 (11.6-14.6)	<0.001
Hematocrit, %	38.6 (35.1-42.2)	39.4 (36.5-43.2)	38.8 (36.1-42.0)	38.1 (34.1-41.7)	38.1 (33.6-42.0)	<0.001
Sodium, mmol/L	138 (136-141)	139 (137-141)	139 (136-140)	138 (135-141)	137 (134-140)	0.023
Potassium, mmol/L	4.2 (3.9-4.7)	4.1 (3.9-4.3)	4.1 (3.9-4.6)	4.3 (4.0-4.8)	4.4 (4.0-4.9)	<0.001
Creatinine, mg/dL	0.5 (0.3-0.6)	0.6 (0.4-0.8)	0.5 (0.3-0.7)	0.4 (0.3-0.5)	0.4 (0.3-0.6)	<0.001
ALT, U/L	21 (15-31)	18 (14-21)	20 (15-27)	22 (15-33)	24 (17-43)	<0.001
CRP, mg/L	2.1 (0.6-15.9)	0.6 (0.6-1.7)	0.8 (0.6-3.4)	6.6 (0.7-25.2)	8.9 (1.1-30.7)	<0.001
NT-proBNP, pg/mL	1,910 (172-8,483)	62 (34-98)	214 (130-977)	2,700 (955-5,340)	11,550 (5,945-24,100)	<0.001
Events during follow-up						
≥1 MACE	138 (15)	1 (1)	12 (6)	32 (14)	93 (30)	
Thereof deceased	55	0	3	8	44	
No events	772 (85)	179 (99)	174 (94)	198 (86)	221 (70)	

Values are median (interquartile range), n (%), or n, unless otherwise indicated. ^aThe corresponding p values refer to the difference between physiological (low and normal) and pathological (intermediate and high) zlog-proBNP levels. ^bPatients with at least 1 major adverse cardiovascular event 30 days prior to the individual baseline.
ALT = alanine transaminase; CRP = C-reactive protein; MACE = major adverse cardiovascular events; zlog-proBNP = zlog value of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide.

function of age and thus provide reference intervals on a daily age basis (5). This gauging allows NT-proBNP concentrations among different age groups to be compared. To ease the practicability of zlog-proBNP in everyday practice, we developed an online calculator (8) by means of which the zlog transform of NT-proBNP values can be reproduced with own laboratory results.

Besides age, further confounders affecting NT-proBNP concentrations are infections (CRP), anemia (hemoglobin, hematocrit), renal function (creatinine) and liver diseases (alanine transaminase) (9). Additionally, some of these biomarkers have an independent prognostic impact on mortality and morbidity in adults with congenital (creatinine, CRP) or acquired heart disease (hemoglobin, hematocrit) (10-12). In heart failure patients, sodium and potassium are predictors of mortality (13,14).

Peripheral blood was collected using standard collection techniques during inpatient hospital stays or on the day of the clinical visit in outpatients.

NT-proBNP was measured using the Roche Diagnostics Elecsys proBNP II assay on a Cobas E411 system. For CRP, a high-sensitivity assay was used. Standard assays were used for all other biomarkers. More information is provided in Supplemental Table 1.

STATISTICAL ANALYSIS. Patients were divided into groups according to zlog-proBNP levels: low (≤ 1.0), normal (>1.0 and ≤ 1.96), intermediate (>1.96 and ≤ 3.0), and high (>3.0). Categorical variables representing baseline characteristics were expressed as percentages, and continuous variables were reported as medians with interquartile ranges (IQRs) or total ranges. For numerical variables, the Wilcoxon Mann-Whitney test was applied, and for contingency tables, the Fisher exact and chi-square test were used.

Cumulative endpoint-free survival curves for zlog-proBNP groups were derived using the Kaplan-Meier method and compared with the log-rank test. Cox regression analysis was performed to identify those indicators associated with MACE, where zlog-proBNP

TABLE 2 Underlying Diagnosis in Study Subjects

Main Cardiac Malformation	Patients
Anomalous left coronary artery from the pulmonary artery	12 (1.3)
Anomalous pulmonary venous connection	
Partial anomalous pulmonary venous connection	7 (0.8)
Total anomalous pulmonary venous connection	7 (0.8)
Aortic valve diseases	49 (5.4)
Aortopulmonary window	2 (0.2)
Atrial septal defect	61 (6.7)
Atrioventricular septal defect	
Partial atrioventricular septal defect	5 (0.5)
Complete atrioventricular septal defect	63 (6.9)
Coarctation of the aorta	62 (6.8)
Double inlet left ventricle	15 (1.6)
Double outlet right ventricle	52 (5.7)
Ebstein's anomaly	12 (1.3)
Hypoplastic left heart syndrome	93 (10.2)
Interrupted aortic arch	6 (0.7)
Mitral valve diseases	7 (0.8)
Patent ductus arteriosus	26 (2.9)
Pulmonary atresia	
Pulmonary atresia with intact ventricular septum	22 (2.4)
Pulmonary atresia with ventricular septal defect	55 (6.0)
Pulmonary valve disease	27 (3.0)
Shone's complex	13 (1.4)
Tetralogy of Fallot	86 (9.5)
Transposition of the great vessels	
dextro-Transposition of the great arteries	58 (6.4)
levo-Transposition of the great arteries	13 (1.4)
Tricuspid atresia	14 (1.5)
Tricuspid valve disease	5 (0.5)
Truncus arteriosus	25 (2.7)
Ventricular septal defect	61 (6.7)
Miscellaneous	
Complex malformations	37 (4.1)
Other minor defects	15 (1.6)

Values are n (%).

was analyzed both as a categorical ("low" as reference group) and as a continuous variable. To consider age-dependent reference intervals and thus achieve a fair comparison, zlog values were calculated for other biomarkers as well (based on the manufacturers' reference values [Supplemental Table 1]). For this analysis, zlog-proBNP was used instead of NT-proBNP. Thereafter, receiver-operating characteristic (ROC) analysis was performed to determine the prognostic validity of zlog-proBNP for predicting both MACE and death within 1 year after observation began. The same analyses were repeated for zlog-proBNP in combination with other significant predictors obtained from the Cox regression analysis.

To rule out the effect of age, paired age matching was conducted by finding a similarly aged patient without MACE for each patient with MACE. Cox

regression was then applied as described in the previous text to this reduced data set, but this time it included both zlog-proBNP and absolute NT-proBNP concentrations for a head-to-head comparison and adjusted for other baseline characteristics. Age matching was conducted by a heuristic optimization algorithm that aims to minimize the sum of the absolute age differences of the log-ages of the MACE/non-MACE pairs. To resolve ties of the log-age values, the matching algorithm used random selection so that repeated runs of the algorithm led to slightly different matchings. The matching was repeated 1,000 times.

All 2-sided *P* values <0.05 were considered statistically significant. Analyses were conducted using R version 4.0.0 (R Foundation for Statistical Computing).

RESULTS

BASELINE CHARACTERISTICS. Of the 1,420 patients with a complete laboratory record, 910 children with CHD met the eligibility criteria (Supplemental Figure 1). Table 1 depicts the baseline characteristics of these subjects. A total of 27% were newborns (birth to ≤28 days), 32% were infants (>28 days to ≤1 year), 18% were children (>1 to ≤10 years) and 23% were adolescents (>10 years to their 18th birthday). The median age was 5 months (mean 4.5 years; range 0.0-18.0 years), and 56% were boys. Because the German Heart Center Munich is a tertiary center for congenital heart defects, complex heart diseases such as hypoplastic left heart syndrome, tricuspid atresia, or pulmonary atresia with intact ventricular septum accounted for a disproportionately large share. Whereas univentricular hearts usually account for only 2.8% of all congenital heart diseases, in our cohort, these patients represented 19.5% (n = 177) (15). Other severe or complex defects were also more frequent than average in our study population, which in turn conferred a significantly increased risk for the occurrence of MACE. The underlying diagnoses are presented in Table 2. A separate analysis according to each diagnosis was deliberately omitted here because this would exceed this paper's scope. Further baseline characteristics are reported in Table 1.

FOLLOW-UP AND MACE. The median observation time was 6 months (range 1 day to 7.6 years). A total of 138 patients (15%) with MACE were identified. Of these cases, 50.0% were resuscitations (n = 69, of which 62 were primarily successful and 7 fatal), 25.4% were extracorporeal membrane oxygenation implantations (n = 35, of which 12 were performed under resuscitation), 17.4% were hospitalizations caused by

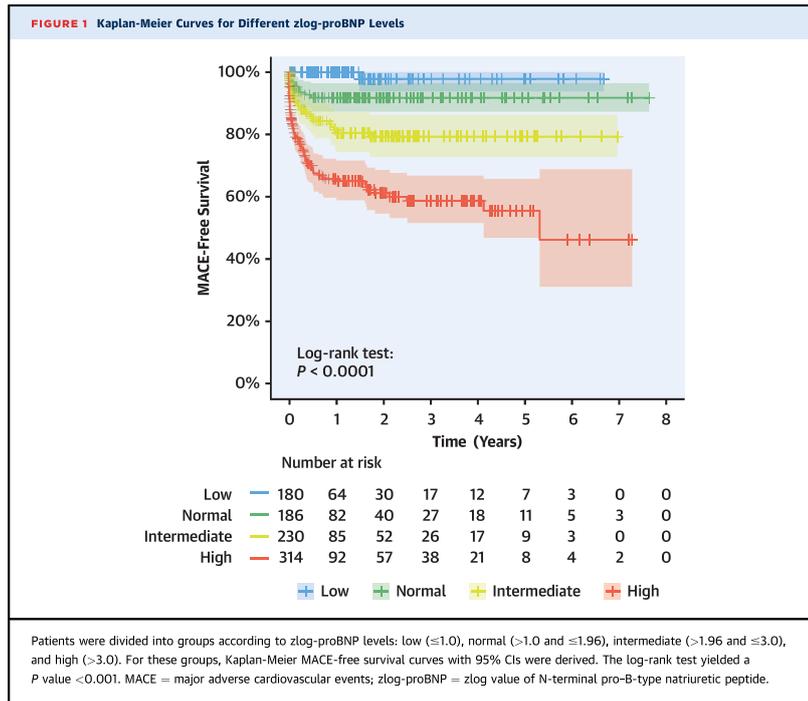


TABLE 3 Risk of MACE and Death According to zlog-proBNP Groups

	zlog-proBNP Level				P Value ^a
	Low (n = 180)	Normal (n = 186)	Intermediate (n = 230)	High (n = 314)	
Major adverse cardiovascular events					
Patients with ≥ 1 event	1	12	32	93	
Total events during follow-up	1	16	43	163	
Person years ^b	181	242	261	302	
1-year MACE incidence, ^c %	0.0	8.3	19.5	35.1	
Crude HR (95% CI)	Reference	10.3 (1.3-79.0)	22.8 (3.1-167.0)	54.2 (7.6-388.8)	< 0.001
Adjusted HR (95% CI)	Reference	8.5 (1.1-65.9)	10.3 (1.4-76.4)	21.1 (2.9-154.2)	< 0.001
Death from any cause					
Deaths	0	3	8	44	
Person years ^b	248	317	261	281	
1-year survival rate, ^c %	100	97.9	95.8	82.7	
Crude HR (95% CI)	Reference ^d		3.9 (1.0-14.5)	16.0 (5.0-51.6)	< 0.001
Adjusted HR (95% CI)	Reference ^d		1.5 (0.4-5.9)	6.1 (1.8-20.6)	0.027

^aThe corresponding P values refer to the difference between physiological (low and normal) and pathological (intermediate and high) zlog-proBNP levels. ^bTotal of the entire observation period to the first event (in years). ^cEstimated with the Kaplan-Meier method. ^dBecause no patients with low zlog-proBNP levels died during follow-up, these subjects were merged with the "normal" group.

TABLE 4 HRs for MACE and Mortality According to Indicators

	MACE		Death	
	HR (95% CI)	P Value	HR (95% CI)	P Value
zlog-proBNP	1.52 (1.31-1.76) ^a	<0.001	1.84 (1.42-2.39) ^a	<0.001
Age				
Increase by log-age, days	0.47 (0.38-0.60) ^a	<0.001	0.36 (0.23-0.56) ^a	<0.001
Sex				
Male	Reference		Reference	
Female	0.96 (0.69-1.35) ^b	0.83	0.90 (0.52-1.53) ^b	0.69
History of MACE ^c				
Negative	Reference		Reference	
Positive	2.29 (1.45-3.60) ^a	<0.001	3.66 (1.89-7.09) ^a	<0.001
Laboratory, 1-SD increase				
Hemoglobin	1.06 (0.96-1.17) ^a	0.22	1.10 (0.94-1.29) ^a	0.24
Hematocrit	0.95 (0.89-1.03) ^b	0.21	1.02 (0.91-1.14) ^b	0.78
Sodium	1.12 (0.98-1.29) ^b	0.10	1.17 (0.96-1.44) ^a	0.13
Potassium	1.05 (0.92-1.20) ^b	0.47	1.16 (0.94-1.42) ^b	0.16
Creatinine	1.12 (1.03-1.22) ^a	0.01	1.09 (0.95-1.24) ^a	0.22
ALT	1.09 (0.89-1.34) ^a	0.38	1.24 (0.91-1.69) ^a	0.18
CRP	1.00 (0.90-1.10) ^a	0.93	0.93 (0.78-1.10) ^a	0.40

^aResult of the multivariate Cox regression analysis caused by significant association in the univariate analysis.
^bResult of the univariate Cox regression analysis (crude HR). ^cPatients with at least 1 major adverse cardiovascular event 30 days prior to individual baseline.
Abbreviations as in Table 1.

cardiac decompensation (n = 24), and 7.2% were deaths despite maximally exhausted therapy (n = 10). The median time from the beginning of observation to the onset of MACE was 20 days (IQR: 2-117 days). The vast majority of primary events occurred within the first year of life (84.8% of MACE). Similar observations were made concerning mortality. Throughout the entire observation period, a total of 55 patients (6.0%) died, with most deaths taking place within the first year of life (85.5% of fatalities).

Subjects with MACE revealed significantly higher zlog-proBNP values (median 3.6; IQR: 2.7-4.1; P < 0.001) than patients without events (median 2.2; IQR: 1.1-3.2) and were more likely to have a positive 30-day MACE history (5% vs 18%). Further

TABLE 5 Prediction of 1-Year MACE Incidence and Mortality

Cutoff for zlog-proBNP	Sensitivity, %	Specificity, %	NPV, %	PPV, %	AUC (95% CI)
Major adverse cardiovascular events (Figure 2A)					
+1.0	100	17.9	100	14.2	0.76 (0.72-0.81)
+1.96	89.5	41.4	96.7	17.2	
+3.0	68.4	65.9	93.9	21.4	
+4.0	31.6	86.6	90.3	24.2	
Death (Figure 2B)					
+1.0	100	18.2	100	16.0	0.80 (0.74-0.86)
+1.96	94.5	41.2	98.0	20.1	
+3.0	80.0	68.2	95.6	28.2	
+4.0	43.6	88.9	91.0	38.1	

characteristics of patients with and without MACE are provided in Supplemental Table 2.

PROGNOSTIC ACCURACY OF ZLOG-PROBNP. Figure 1 shows the Kaplan-Meier survival curves with 95% CIs according to zlog-proBNP groups. The log-rank test yielded a P value <0.001.

Kaplan-Meier estimates for the occurrence of MACE at 1 year were 0.0% for children with low zlog-proBNP levels, 8.3% for children with normal zlog-proBNP levels, 19.5% for children with intermediate zlog-proBNP levels, and 35.1% for children with high zlog-proBNP levels. Similar results were observed concerning mortality: 94.5% of deaths occurred in children with intermediate or high zlog-proBNP values, whereas no fatalities occurred in the low group. Kaplan-Meier estimates for survival rates at 1 year were 100% for subjects with low zlog-proBNP levels but 82.7% for those with high zlog-proBNP levels. Further results are depicted in Table 3.

In the Cox regression analysis, zlog-proBNP was strongly associated with both MACE and death, irrespective of whether it was analyzed as a categorical (Table 3) or continuous variable (Table 4). After adjustment for confounders, zlog-proBNP remained a highly significant predictor. The HRs of all baseline characteristics are shown in Table 4.

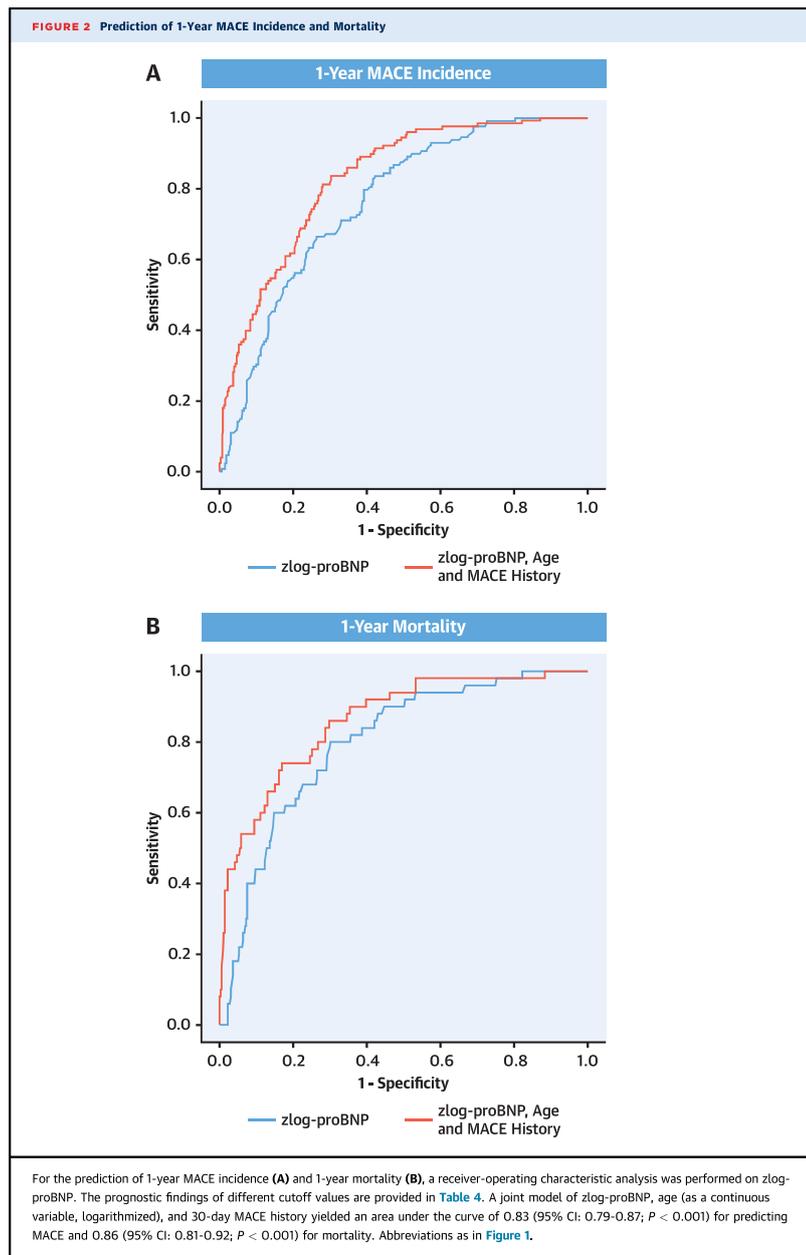
For the prediction of 1-year MACE incidence and 1-year mortality, zlog-proBNP yielded areas under the curve (AUCs) of 0.76 (95% CI: 0.72-0.81; P < 0.001) and 0.80 (95% CI: 0.74-0.86; P < 0.001), respectively. Table 5 provides the prognostic findings of different zlog-proBNP levels. Corresponding ROC curves are depicted in Figures 2A and 2B.

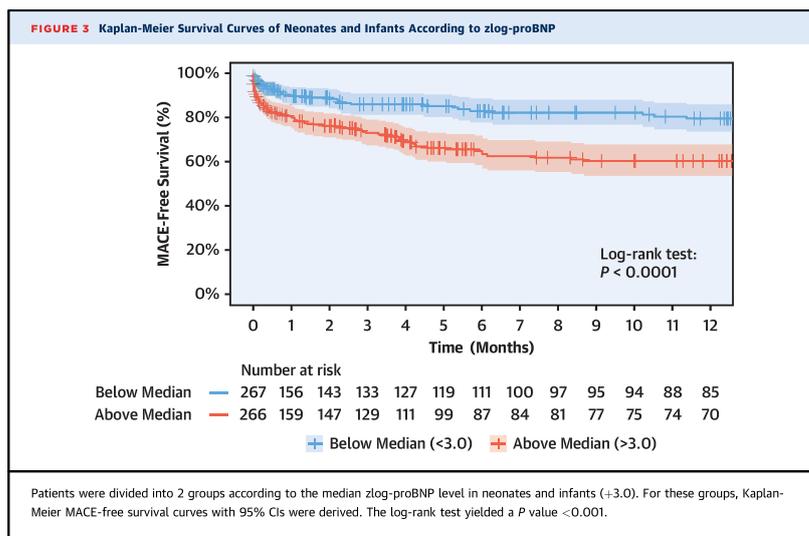
EFFECT OF AGE. Of the 1,000 age matches performed, zlog-proBNP was significantly associated with MACE 956 times. In contrast, the absolute NT-proBNP concentration did not achieve significance even once. Cox regression analysis obtained an average adjusted HR of 1.09 (95% CI: 0.63-1.86; P = 0.76) for NT-proBNP and 1.35 (95% CI: 1.08-1.69; P = 0.009) for zlog-proBNP.

HIGH-RISK PATIENTS: NEONATES AND INFANTS. As 84.8% of major adverse cardiovascular events and 85.5% of deaths occurred during the first year of life, we performed an additional Kaplan-Meier survival analysis for this population (Figure 3). Because NT-proBNP in neonates and infants (<1 year of age) reveals a strong age dependency, as described in the previous text, applying zlog-proBNP is a particular advantage (3). First, NT-proBNP values can be assessed easily (eg, with our online calculator) without knowledge of different age-dependent reference intervals, because its reference interval

JACC VOL. 78, NO. 19, 2021
NOVEMBER 9, 2021:1890-1900

Palm et al 1897
Prediction of MACE With NT-proBNP in Children





ranges from -1.96 to $+1.96$ age-independently. Second, this facilitates comparison with previously measured NT-proBNP values and thus the assessment of the progression in the first place. As indicated by the Kaplan-Meier survival curve (Figure 3), it is possible to identify high-risk patients on the basis of zlog-proBNP.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, no previous study has investigated the predictive value of NT-proBNP in children with CHD. Therefore, in the following comparisons with other studies, only studies that include patients with acquired structural heart diseases (eg, cardiomyopathies) or use BNP instead will be referenced. A major difference between NT-proBNP and its active peptide BNP is the different half-life time (1-2 hours vs 15-20 minutes) (16). As a result, NT-proBNP reveals higher plasma concentrations and a more pronounced age dynamic (16). Furthermore, only 1 assay (Roche proBNP II kit) is routinely used for NT-proBNP, facilitating the comparison of different studies. In contrast, several assays with variable reference intervals exist for BNP (9). Of course, one may also calculate zlog values for BNP, but in this case, for each assay, a specific zlog formula will be needed (5).

ROLE OF AGE. As demonstrated in previous studies, physiological NT-proBNP dynamics have been

characterized by exceptionally high concentrations within the first days of life, followed by an exponential decline, especially during the first year (3,4). The same dynamics are described in preterm infants (17). The reference intervals assessed by Nir et al (4), on which zlog-proBNP is based, are consistent with recently established reference intervals of very and extremely preterm infants (17). Precisely this first year of life also constitutes the most critical period in patients with CHD (18). First, decisive cardiopulmonary procedures with their intrinsic risks are still pending. Second, the underlying hemodynamic condition of complex CHD entails severe strain on the myocardium, ultimately causing acute or chronic heart failure (16,19). It is thus not surprising that in children with CHD, mortality and the occurrence of MACE depend on age as well (18). In our cohort, we observed a similar age dependence: approximately 85% of both deaths and major adverse cardiovascular events occurred during the first year of life.

RELATIONSHIP AMONG AGE, MACE, AND NT-proBNP.

Based on these 2 facts, a correlation between MACE and NT-proBNP that is interlinked by age exists. However, this coincidental effect with time as a mediator must not be mistaken for a cause-and-effect relationship, because correlation does not imply causation. To overcome this logical fallacy and to truly assess whether there is a relationship between NT-proBNP and MACE, age must be dissociated as the

JACC VOL. 78, NO. 19, 2021
NOVEMBER 9, 2021:1890-1900

Palm et al 1899
Prediction of MACE With NT-proBNP in Children

common factor before performing statistical analyses. In our study, this was achieved by using zlog-proBNP instead of absolute NT-proBNP values. Our findings proved zlog-proBNP to predict both MACE and mortality at a high level of significance. Even after adjustment for age and other confounders, it constituted the strongest predictor besides age. In the age-matched analysis, zlog-proBNP remained a highly significant predictor, whereas the absolute NT-proBNP concentration was no longer predictive of the occurrence of MACE. Due to its age independence, the provided zlog-proBNP cutoff values are applicable for the entire childhood and adolescence (5).

COMPARISON WITH PREVIOUS STUDIES. Until recently, the simultaneous decay of MACE and NT-proBNP dynamics with age could only be solved by forming age-related subgroups. However, this creates implausible jumps at the boundaries between groups and can cause these groups to become too small for statistical analysis (5). However, only the largest study ($n = 138$; median age 3.4 years; IQR: 1.1-11.0 years) performed such a subgrouping (20). Although the authors were able to demonstrate a prognostic value for BNP predicting MACE, a uniform cutoff value not considering age-dependent reference intervals was established (16,20). ROC analysis revealed an AUC of 0.71 (95% CI: 0.60-0.81) (20). We obtained a similar but better result for zlog-proBNP (AUC: 0.76 [95% CI: 0.72-0.81]). Comparatively, our cohort was considerably larger, exclusively consisted of children with CHD of all ages, and investigated NT-proBNP by means of zlog-proBNP.

Another study revealed BNP to have a high prognostic value in children with dilated cardiomyopathy and ventricular dysfunction ($n = 56$; median age 9.3 years; IQR: 2.7-15.1 years) for predicting cardiac death, cardiac hospitalization, and listing for heart transplantation (21). Further evidence for the prognostic role of NT-proBNP was given by a prospective study with 65 children with CHD in which deceased patients had higher NT-proBNP concentrations than surviving patients (22). Although no survival analysis was performed, all of these findings are consistent with our results.

OUTLOOK. Given the limited data available in children, it is no surprise that thus far, no biomarkers have been included in the guidelines for the treatment of children with CHD (2). With our findings, for the first time, we demonstrated the high prognostic value of zlog-proBNP in a large cohort of children of all ages over the entire range of CHD. These by far represent the main group of pediatric cardiological diagnoses in industrialized nations. Additionally, the age independence of zlog-proBNP permits the determination of cutoff values valid throughout the

entirety of childhood (5). Due to its high prognostic validity and superiority, zlog-proBNP is of high clinical value. We therefore expect zlog-proBNP to play a pivotal role in the future management of children with both congenital and acquired heart diseases. Theoretically, it would also be suitable for use in cardiovascular medicine in adulthood to consider the—albeit less pronounced—age-related dynamics (23).

STUDY LIMITATIONS. This study is a retrospective analysis. We have deliberately omitted echocardiographic parameters such as the ejection fraction, as, because of their anatomical heterogeneity, they have not been standardized for different ventricle geometries in many complex heart diseases (eg, those with systemic right ventricle). Additionally, functional classes were not evaluated because they can be confounded by subjective parents' reporting and are difficult to assess in a clinical setting after surgical or transcatheter interventions.

CONCLUSIONS

In the largest pediatric cardiological cohort to date, our findings reveal zlog-proBNP to reliably predict the risk of MACE. Of all indicators evaluated, zlog-proBNP was the best predictor besides age. After age matching was performed, the absolute NT-proBNP concentration no longer predicted the occurrence of MACE. In contrast, zlog-proBNP remained a highly significant predictor. Due to its age independence, the cutoff values presented in our study are valid for risk stratification throughout childhood. Therefore, its usage may reduce mortality and morbidity in everyday clinical practice and has the capability to play a pivotal role in the management of children with heart diseases. Furthermore, zlog-proBNP has the potential to profoundly influence clinical research in pediatric cardiology, similar to NT-proBNP in cardiovascular medicine in adults.

ACKNOWLEDGMENT The authors thank Dr Laura Wiegand for her support in the database query of the laboratory values.

FUNDING SUPPORT AND AUTHOR DISCLOSURES

The authors have reported that they have no relationships relevant to the contents of this paper to disclose.

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE: Dr Jonas Palm, Department of Pediatric Cardiology and Congenital Heart Defects, German Heart Center of the Technical University Munich, Lazarettstraße 36, D-80636 Munich, Germany. E-mail: palmj@dhm.mhn.de.

1900 Palm et al
Prediction of MACE With NT-proBNP in Children

JACC VOL. 78, NO. 19, 2021
NOVEMBER 9, 2021:1890-1900

PERSPECTIVES

COMPETENCY IN PATIENT CARE AND PROCEDURAL OUTCOMES: zlog-proBNP, an age-adjusted z-score of plasma NT-proBNP level, reliably predicts major adverse cardiovascular events in children with CHD.

TRANSLATIONAL OUTLOOK: Further research is needed to determine the prognostic value of zlog-proBNP in acquired forms of pediatric heart disease and to define its role in relation to other risk assessment tools.

REFERENCES

- Mishra RK, Beatty AL, Jaganath R, Regan M, Wu AH, Whooley MA. B-type natriuretic peptides for the prediction of cardiovascular events in patients with stable coronary heart disease: the Heart and Soul Study. *J Am Heart Assoc.* 2014;3:e000907.
- Cantinotti M, Walters HL, Crocetti M, Marotta M, Murzi B, Clerico A. BNP in children with congenital cardiac disease: is there now sufficient evidence for its routine use? *Cardiol Young.* 2015;25:424-437.
- Lam E, Higgins V, Zhang L, et al. Normative values of high-sensitivity cardiac troponin T and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in children and adolescents: a study from the CALIPER cohort. *J Appl Lab Med.* 2021;6(2):344-353. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfaa090>.
- Nir A, Lindinger A, Rauh M, et al. NT-pro-B-type natriuretic peptide in infants and children: reference values based on combined data from four studies. *Pediatr Cardiol.* 2009;30:3.
- Palm J, Hoffmann G, Klawonn F, et al. Continuous, complete and comparable NT-proBNP reference ranges in healthy children. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58:1509-1516.
- Hoffmann G, Klawonn F, Lichtinghagen R, Orth M. The zlog value as a basis for the standardization of laboratory results. *J Lab Med.* 2018;1:23-32.
- Simpson JM, Chubb H. Do we finally have the A to Z of Z scores? *Circ Cardiovasc Imaging.* 2017;10:e007191.
- Conversion of absolute NT-proBNP concentrations to zlog-proBNP values. Accessed September 15, 2021. https://dhm.mhn.de/de/kliniken_und_institute/klinik_fuer_angeborene_herzfeh/forschung/rechner.cfm
- Cantinotti M, Law Y, Vittorini S, et al. The potential and limitations of plasma BNP measurement in the diagnosis, prognosis, and management of children with heart failure due to congenital cardiac disease: an update. *Heart Fail Rev.* 2014;19:727-742.
- Opatowsky AR, Valente AM, Alshawabkeh L, et al. Prospective cohort study of C-reactive protein as a predictor of clinical events in adults with congenital heart disease: results of the Boston adult congenital heart disease biobank. *Eur Heart J.* 2018;39:3253-3261.
- Dimopoulos K, Diller GP, Koltsida E, et al. Prevalence, predictors, and prognostic value of renal dysfunction in adults with congenital heart disease. *Circulation.* 2008;117:2320-2328.
- Kajimoto K, Sato N, Takano T, investigators of the Acute Decompensated Heart Failure Syndromes (ATTEND) Registry. Association of anemia and renal dysfunction with in-hospital mortality among patients hospitalized for acute heart failure syndromes with preserved or reduced ejection fraction. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care.* 2016;5:89-99.
- Abebe TB, Gebreyohannes EA, Tefera YG, et al. The prognosis of heart failure patients: Does sodium level play a significant role? *PLoS One.* 2018;13:e0207242.
- Linde C, Qin L, Bakhal A, et al. Serum potassium and clinical outcomes in heart failure patients: results of risk calculations in 21 334 patients in the UK. *ESC Heart Fail.* 2019;6:280-290.
- Lindinger A, Schwedler G, Hense HW. Prevalence of congenital heart defects in newborns in Germany: results of the first registration year of the PAN Study (July 2006 to June 2007). *Klin Padiatr.* 2010;222:321-326.
- Cantinotti M, Giovannini S, Murzi B, Clerico A. Diagnostic, prognostic and therapeutic relevance of B-type natriuretic hormone and related peptides in children with congenital heart diseases. *Clin Chem Lab Med.* 2011;49:567-580.
- Fritz A-S, Keller T, Kribs A, Hünsele C. Reference values for N-terminal pro-brain natriuretic peptide in premature infants during their first weeks of life. *Eur J Pediatr.* 2021;180:1193-1201.
- Gilboa SM, Salemi JL, Nembhard WN, Fixler DE, Correa A. Mortality resulting from congenital heart disease among children and adults in the United States, 1999 to 2006. *Circulation.* 2010;122:2254-2263.
- Westerlind A, Wähler H, Berggren H, Lundberg PA, Holmgren D. Plasma levels of natriuretic peptide type B and A in children with heart disease with different types of cardiac load or systolic dysfunction. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2008;28:277-284.
- Auerbach SR, Richmond ME, Lamour JM, et al. BNP levels predict outcome in pediatric heart failure patients: post hoc analysis of the Pediatric Carvedilol Trial. *Circ Heart Fail.* 2010;3:606-611.
- Price JF, Thomas AK, Grenier M, et al. B-type natriuretic peptide predicts adverse cardiovascular events in pediatric outpatients with chronic left ventricular systolic dysfunction. *Circulation.* 2006;114:1063-1069.
- Zhang R, Gong J, Wang S, Shen L, Xie Y, Li X. Relationship Between Serum B7-H3 Levels and Prognosis of Congenital Heart Disease in Children. *Pediatr Cardiol.* 2019;40:177-181.
- Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett JC. Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:976-982.

KEY WORDS congenital heart disease, MACE, mortality pediatrics, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, zlog-proBNP

APPENDIX For supplemental tables and a figure, please see the online version of this paper.