

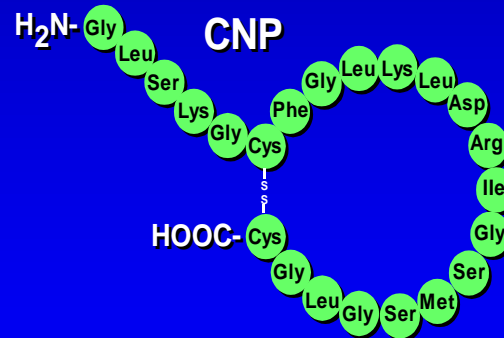
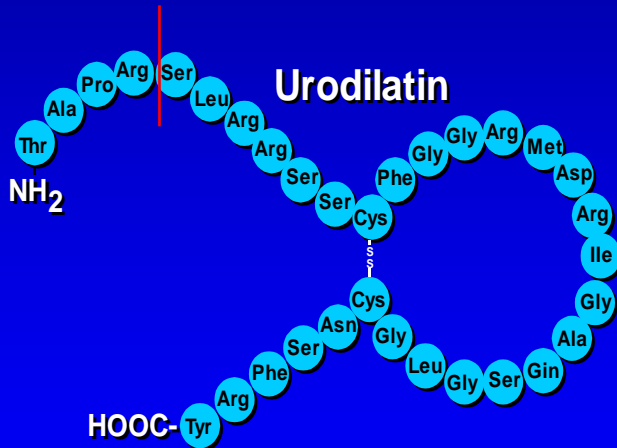
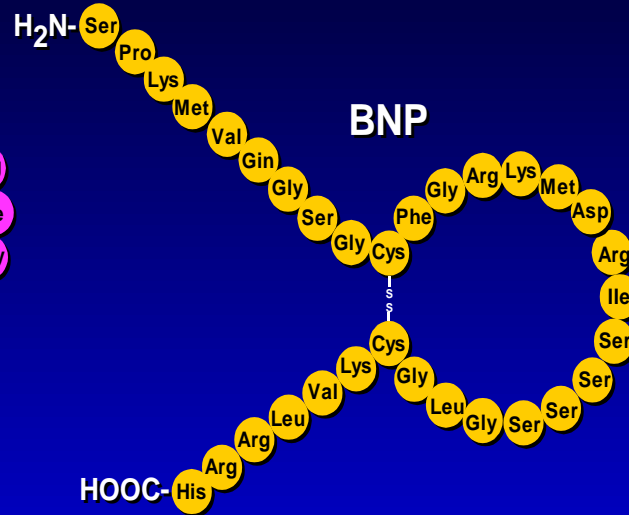
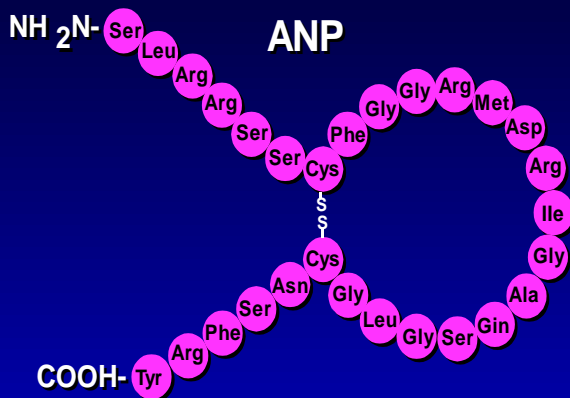


Βιοδείκτες καρδιακής ανεπάρκειας

Χρήστος Κρούπης, MSc, PhD

*Αναπληρωτής Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας-Μοριακής Διαγνωστικής
Αττικών Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο
Ιατρική Σχολή,
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Νατριουρητικές ορμόνες (Cardiac) Natriuretic Hormones (CNH)



ANP
Atrial Natriuretic
Peptide

BNP
Brain ή B-type
Natriuretic Peptide

CNP
C-type Natriuretic
Peptide

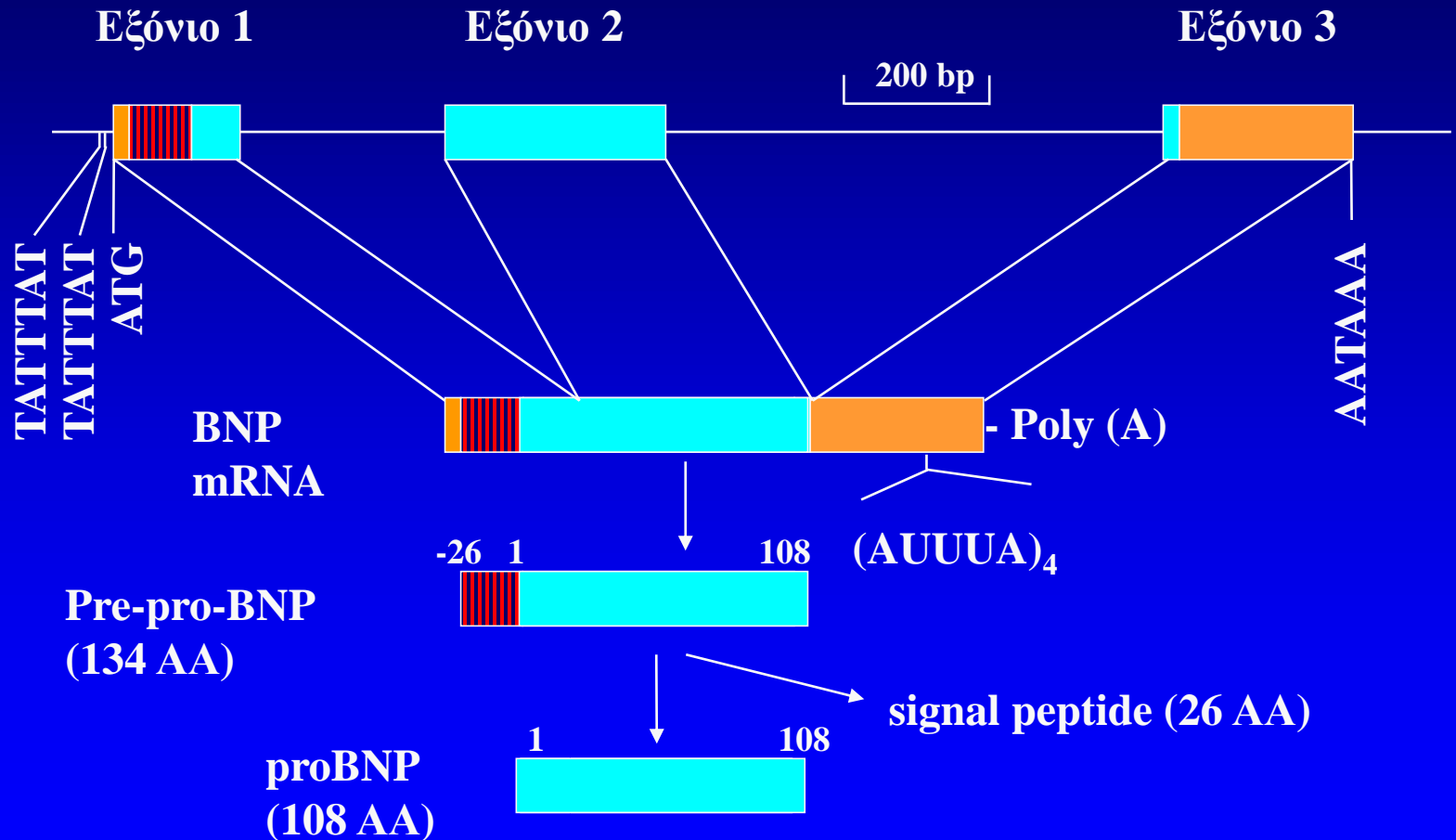
Urodilatin
(ANP + 4 AA)

De Bold A.J. et al., Life Sci 1981;28:89-94
Sudoh T. et al., Nature 1988;332:78-81

BNP – από το γονίδιο στη πρωτεΐνη

BNP γονίδιο: *NPPB* (Natriuretic Peptide Precursor B)

Χρωμόσωμα 1

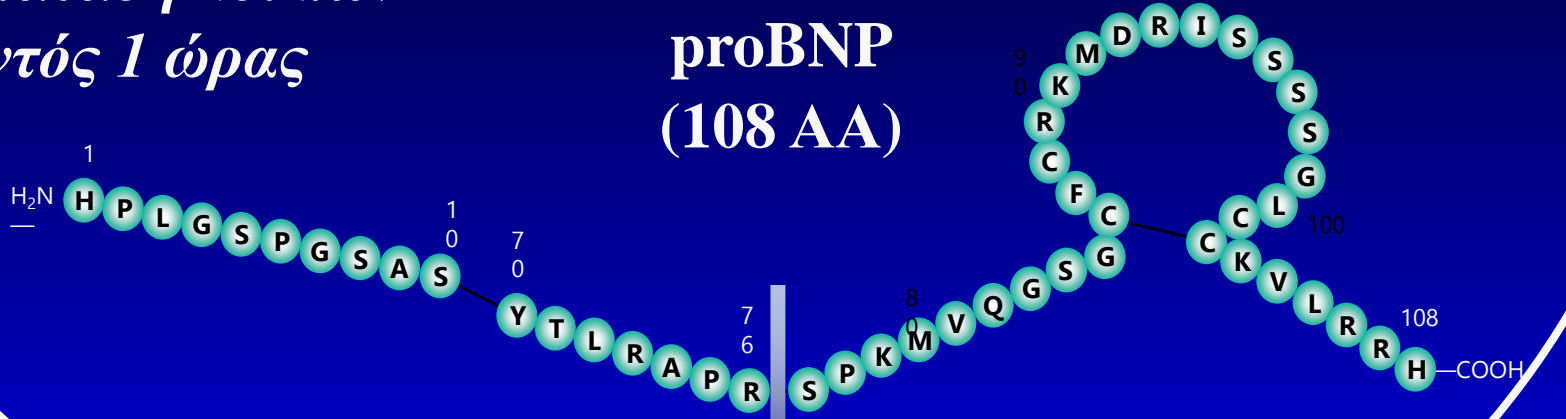


Έκκριση BNP και NT-proBNP

Διάταση κοιλιών
εντός 1 ώρας

Καρδιομυοκύτταρο

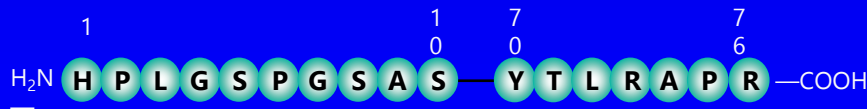
proBNP
(108 AA)



Πρωτεόλυση με ένζυμα

κορίνη/φουρίνη

NT-proBNP



$T_{1/2}$ 120 min

Ανενεργό πεπτίδιο 76 AA

BNP



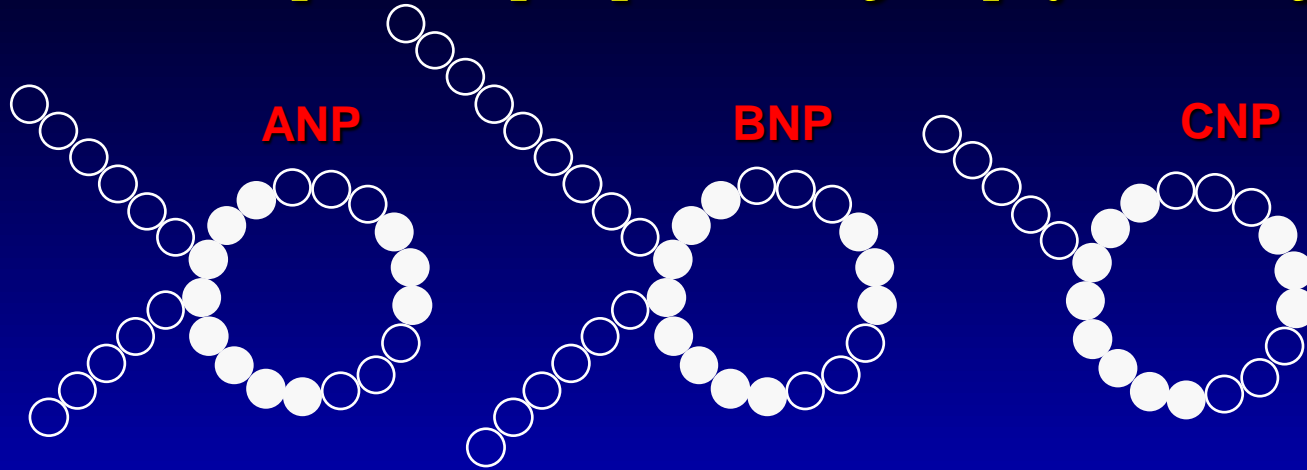
$T_{1/2}$ 22 min

Ενεργός ορμόνη

32 AA

30 AA (corin)

Νατριουρητικές ορμόνες



ANP

28 AA

Κόλποι καρδιάς

BNP

32 AA

Κοιλίες καρδιάς / εγκέφαλος

CNP

53 ή 22 AA

Αγγειακό ενδοθήλιο (παρακρινής)

Ουροδιλατίνη

32 AA

Από τα νεφρά στα ούρα (ANP + 4 AA)

DNP

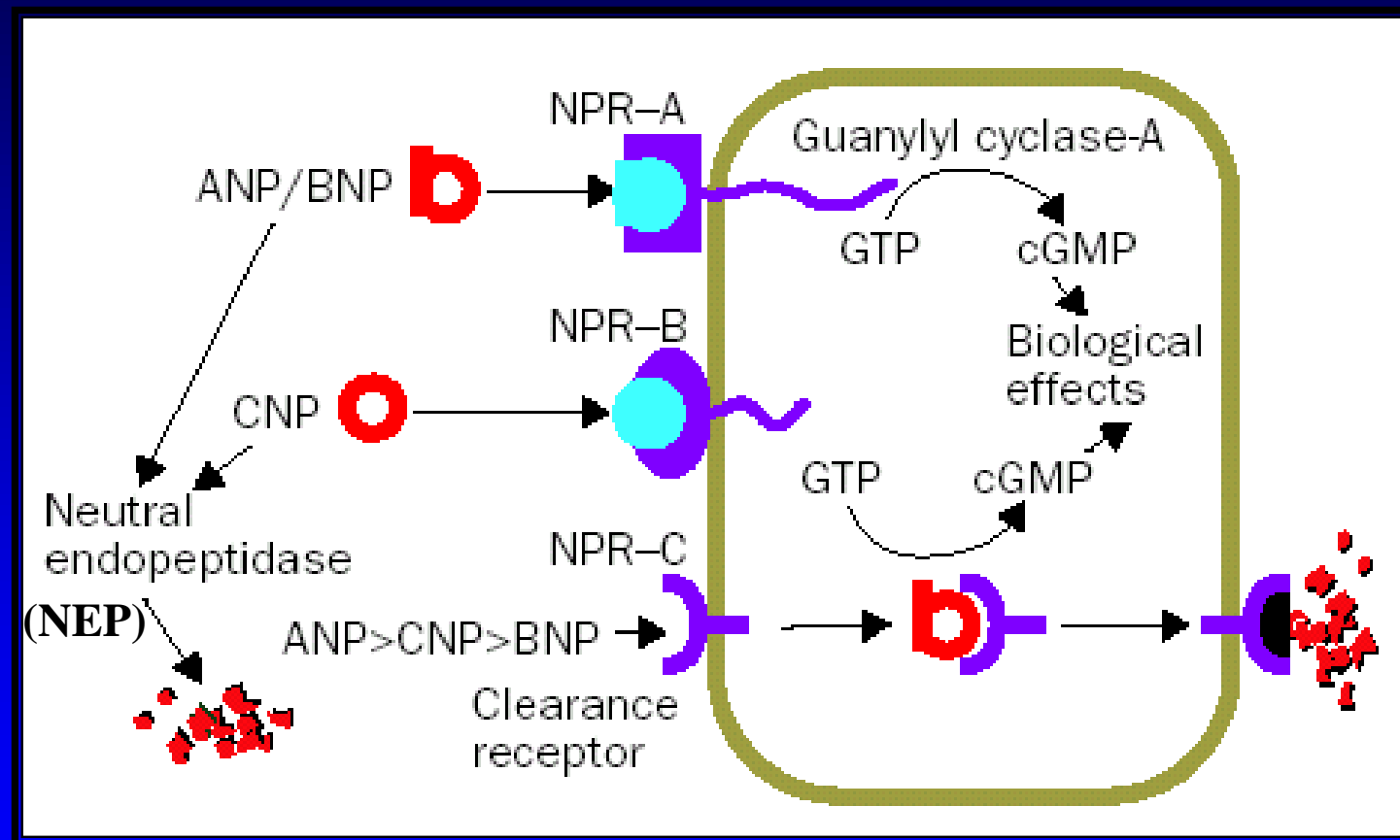
38 AA

Κόλποι καρδιάς? Ενδοθήλιο?

(*Dendroaspis* NP)

Υποδοχείς NPR (Natriuretic Peptide Receptors)

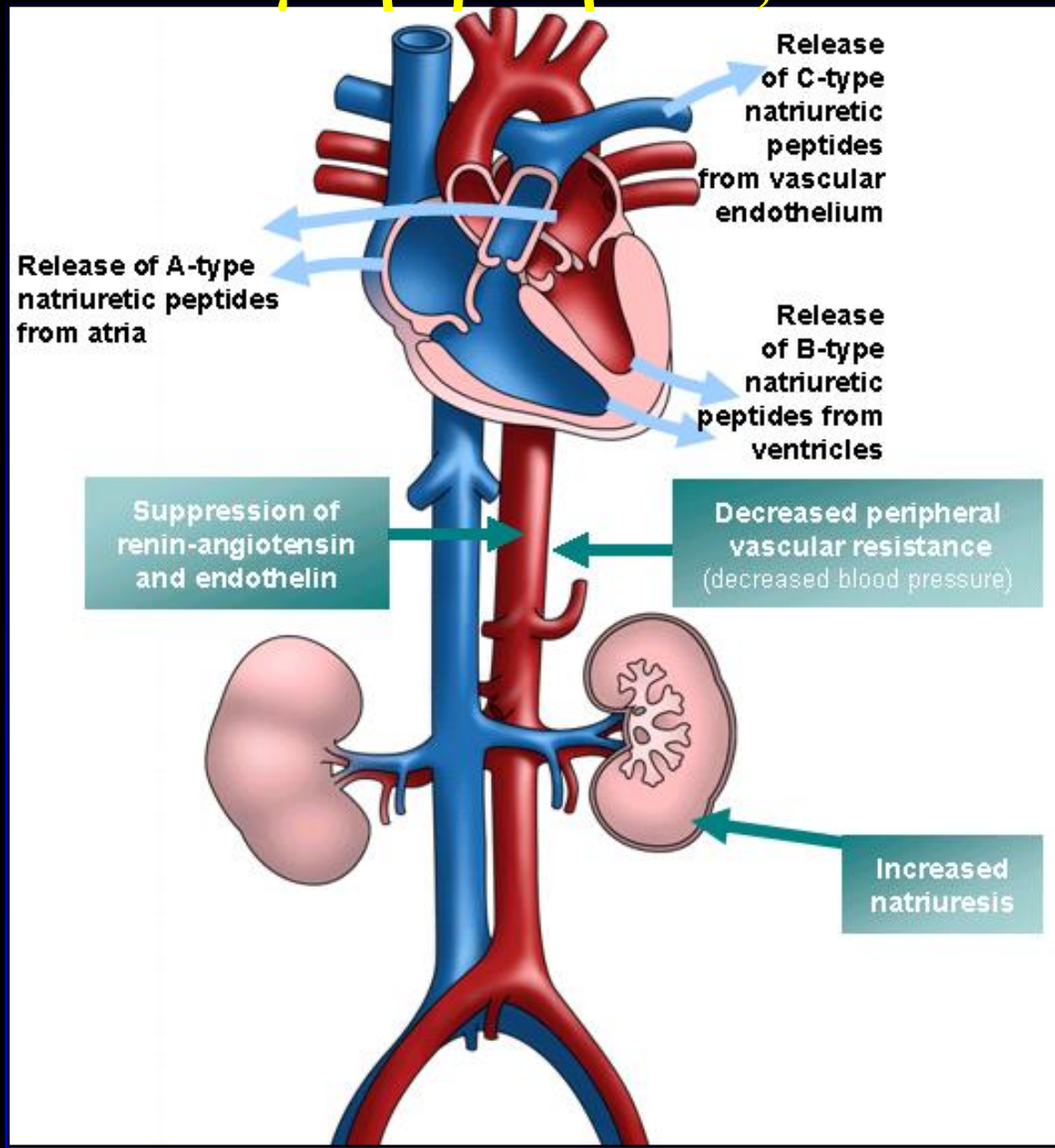
3 τύποι NPR: type A, type B, type C (Clearance)



Neutral endopeptidase (NEP ή αλλιώς Neprilysin, EC 3.4.24.11)
Zn-enzyme in two forms: membrane-bound and soluble

	ANP	BNP	CNP
Περιοχή γονιδίου	1p36.2	1p36.2	2q24
Προορμόνη (AA)	126	108	126
NT-πεπτίδιο (AA)	98	76	55
Ενεργό πεπτίδιο (AA)	28	32	22 και 53
Ένζυμο πρωτεόλυσης	κορίνη	φουρίνη	
Χρόνος ημιζωής ($t_{1/2}$) ενεργού πεπτιδίου	3 min	22 min	2 min
Χρόνος ημιζωής ($t_{1/2}$) NT		120 min	
Μηχανισμός κάθαρσης	NPR-A NPR-C NEP	NPR-A NEP (NPR-C)	NPR-B NPR-C NEP
Ιστική προέλευση και κατανομή	Καρδιά (κόλπος κυρίως και κοιλία)	Εγκέφαλος Καρδιακή κοιλία Ινοβλάστες καρδιάς	Ενδοθήλιο, εγκέφαλος, ενδομήτριο
Knockout φαινότυπος	Υπέρταση	Μυοκαρδιακή ίνωση	Νανισμός
Ενδοκυττάρια αποθήκευση	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΟΧΙ
Επαγωγή	ΟΧΙ	ΝΑΙ	ΟΧΙ

Φυσιολογική δράση ANP, BNP και CNP

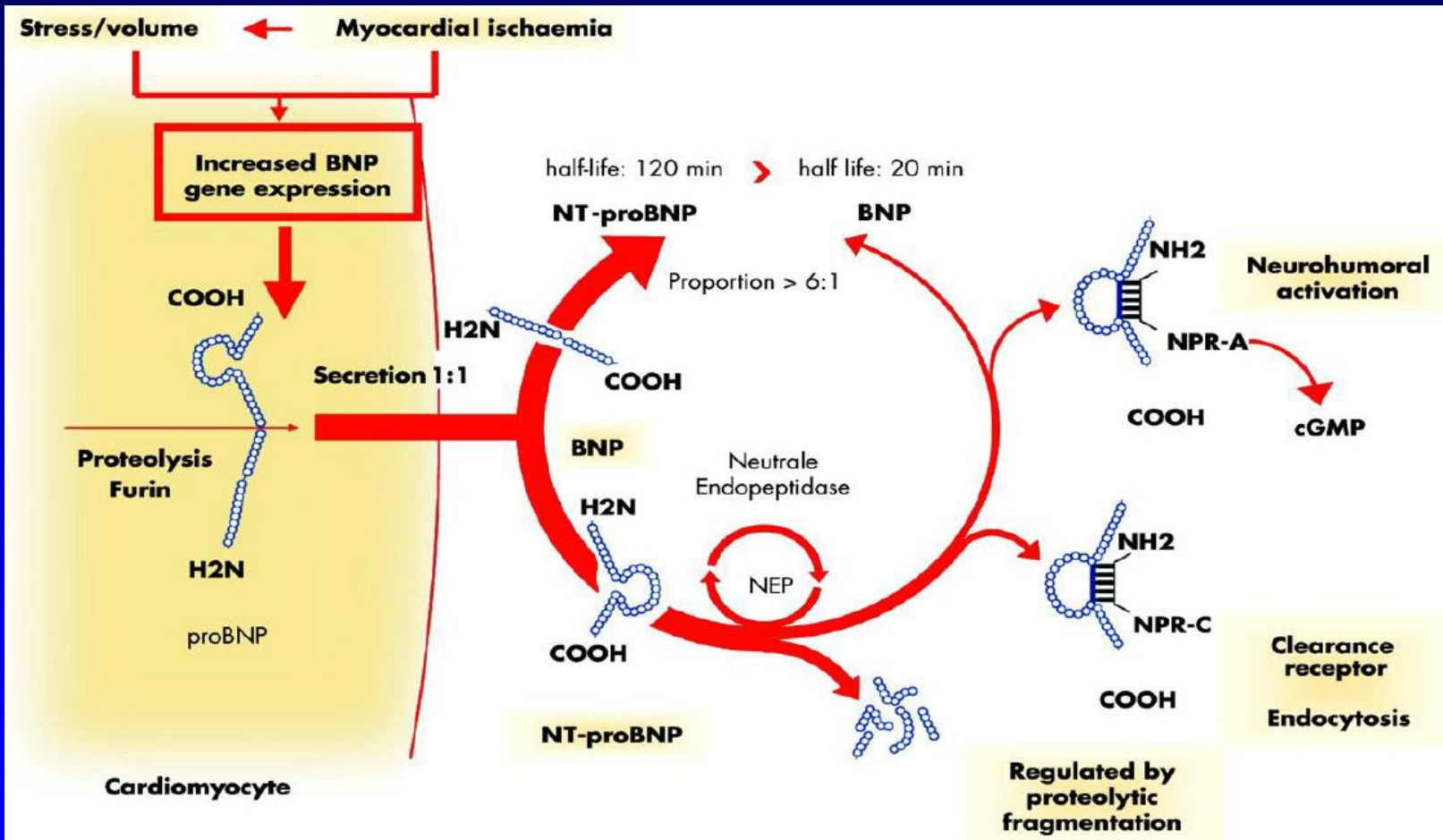


Καταστολή:
-ίνωσης
-υπερτροφίας
-remodelling
(ιστική
αναδιαμόρφωση)

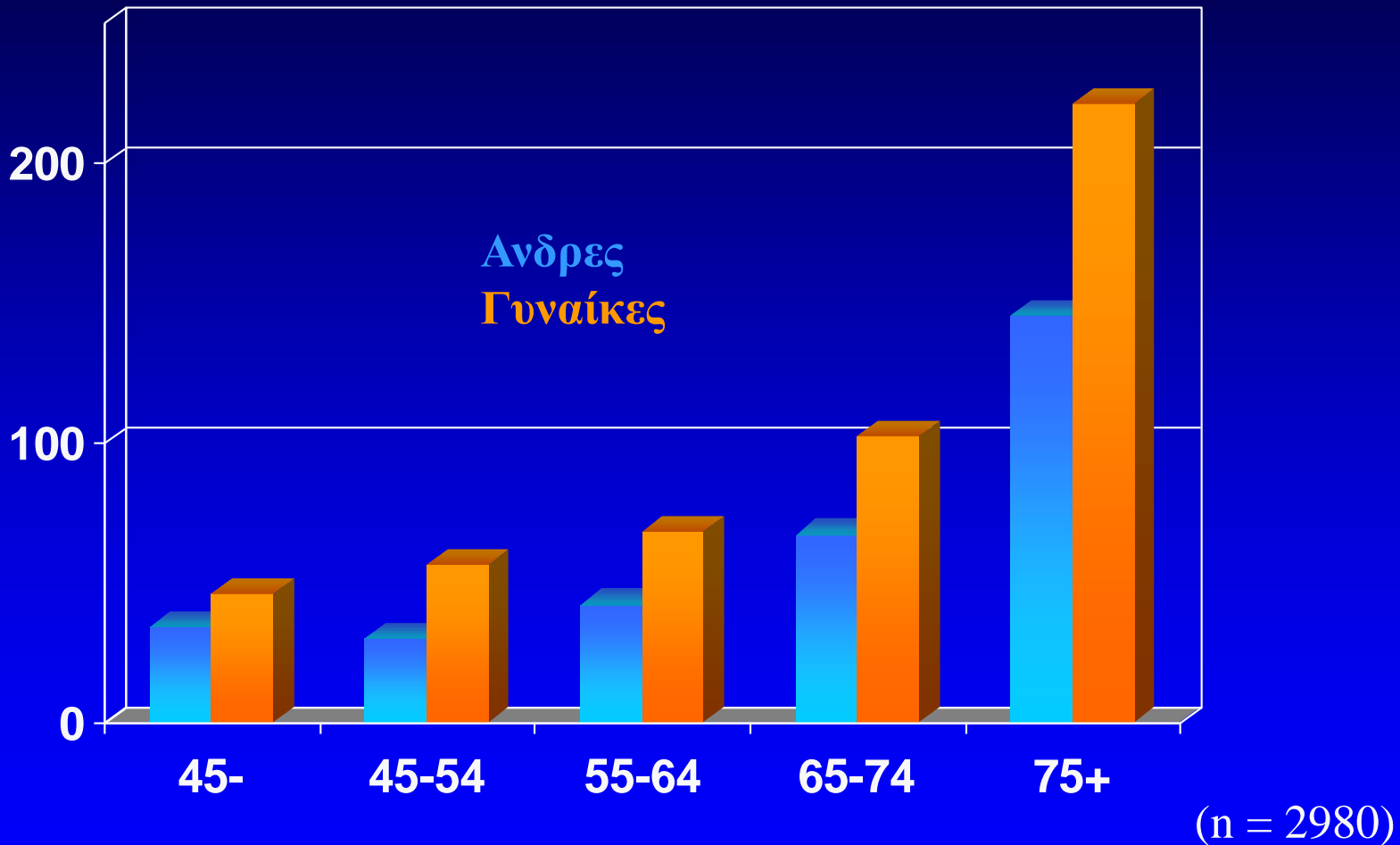
**ΤΙΜΕΣ ΚΑΡΔΙΟΝΑΤΡΙΟΥΡΗΤΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΑΙΜΑ
ΣΕ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ**

ΝΟΣΟΙ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ CΝΗ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
Νόσοι μυοκαρδίου	
Καρδιακή ανεπάρκεια	↑ ↑ ↑
Οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου (πρώτες 2-5 ημέρες)	↑ ↑ ↑
Υπέρταση με αριστερά κοιλιακή υπερτροφία	↑ ↑
Πνευμονικές νόσοι	
Οξεία δύσπνοια	↑ ↑
Πνευμονική εμβολή	↑ ↑
Αποφρακτική πνευμονική νόσος	↑ ↑
Ενδοκρινολογικές και μεταβολικές νόσοι	
Υπερθυρεοειδισμός	↑ ↑
Υποθυρεοειδισμός	↓
Σύνδρομο Cushing	↑ ↑
Πρωτοπαθής υπεραλδοστερινισμός	↑ ↑
Διαβήτης	- / ↑
Ηπατική κίρρωση με ασκίτη	↑ ↑
Νεφρική ανεπάρκεια (οξεία ή χρόνια)	↑ ↑ ↑
Υπαραχνοειδής αιμορραγία	↑ ↑

Παθολογικές τιμές BNP/NT-proBNP



Τιμές αναφοράς BNP σε σχέση με την ηλικία και το φύλο



Οι παχύσαρκοι έχουν πιο χαμηλές τιμές BNP

Τιμές αναφοράς NT-proBNP

Ανδρες		
Ηλικία (έτη)	N	Μέση τιμή
18-44	815	27.7
45-54	278	39.0
55-64	259	57.2
65-74	61	105
≥ 75	13	163
Σύνολο	1426	39.8

Γυναίκες		
Ηλικία (έτη)	N	Μέση τιμή
18-44	508	48.2
45-54	130	71.5
55-64	139	101
65-74	41	109
≥ 75	20	243
Σύνολο	838	68.2

Παιδιατρικές τιμές αναφοράς

Ηλικία (έτη)	N	NT-proBNP (ng/L)	
		75 ^ο εκατοστημόριο	97.5 ^ο εκατοστημόριο
1-3	13	231	320
4-6	21	113	190
7-9	32	94	145
10	11	73	112
11	69	93	317
12	21	95	186
13	23	114	370
14	18	68	363
15	24	74	217
16	24	85	206
17	24	71	135
18	12	53	115

Universal cut-off: 125 pg/mL (<75 ετών)

Εργαστηριακές δοκιμασίες CNH

NTproBNP ή BNP?



NTproBNP

- Μεγαλύτερος χρόνος ημιζωής
- Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις
- Πιο πολλοί επίτοποι
- Πιο σταθερό σε ορό ή πλάσμα
- Επηρεάζεται από τη νεφρική κάθαρση (δείκτης καρδιονεφρικής λειτουργίας)
- Καταλληλότερο μετά από θεραπεία με Entresto

BNP

- Ενεργός ορμόνη
- Ενεργοποίηση νευροορμονικού συστήματος
- Συσχέτιση με έντονες αιμοδυναμικές αλλαγές
- Προσοχή στη θεραπεία με rBNP

Μέτρηση BNP

Μέθοδος RIA
(Shionoghi)

Triage[®]MeterPlus (μέθοδος ILMA)

Σε αναλυτές:



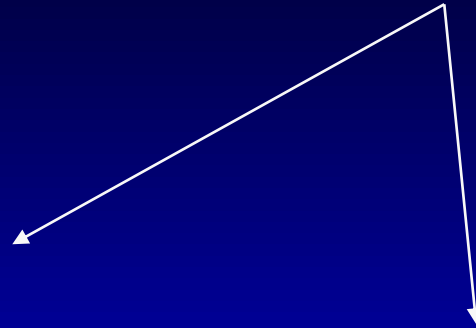
AxSYM
(Abbott)
ACCESS
(Beckman-Coulter)
ADVIA Centaur
(Bayer [Shionoghi mAb])

Φορητό σύστημα παρά την κλίνη
(POCT -15 min)

Biosite αρχικά-
Alere Abbott Diagnostics

Τιμές αναφοράς:
<100 ng/L

Μέτρηση NT-proBNP



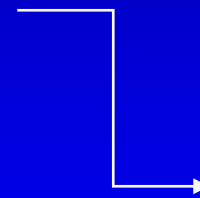
EIA μέθοδος
(συναγωνιστική)

(Biomedica)

Τιμές αναφοράς:
<600 ng/L

ELISA μέθοδος
(sandwich)

(Roche)



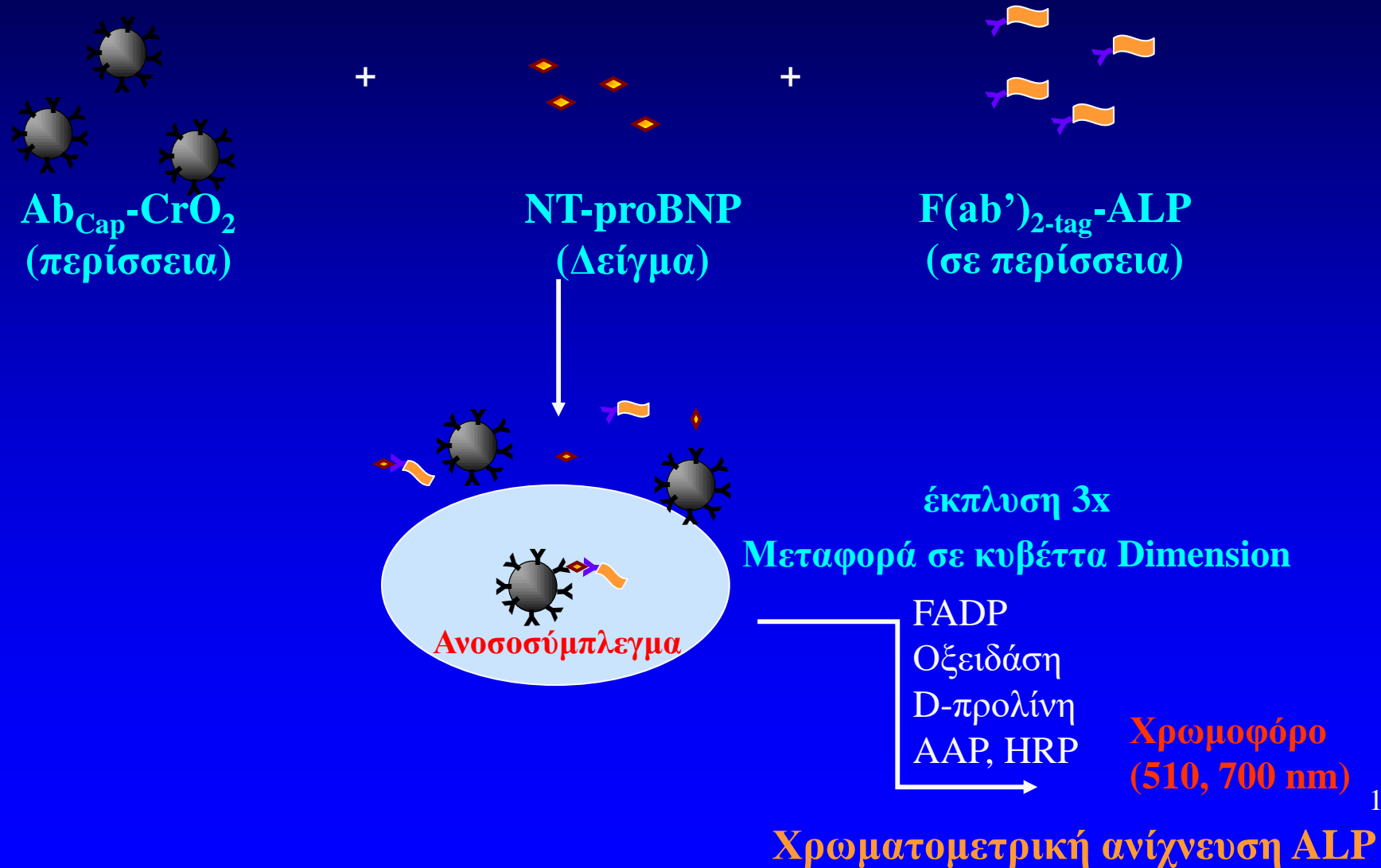
ECLIA μέθοδος

Στον αναλυτή
ELECSYS

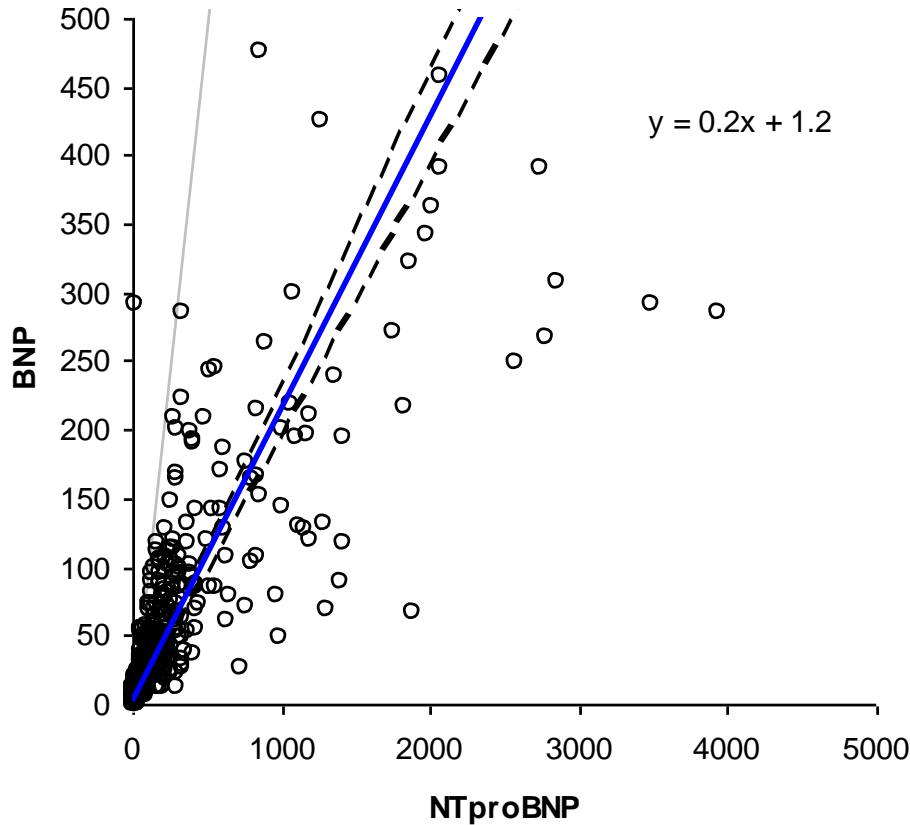
Τιμές αναφοράς:
<75 ετών <125 ng/L

NT-proBNP (Dade Behring-Siemens)

Ανοσοαντίδραση



Σύγκριση BNP/NT-proBNP



$r = 0,89$ (n = 467)

Προβλήματα στις μετρήσεις
Έλλειψη προτύπων διαλυμάτων
Τι μετράει η κάθε μέθοδος?

Διαφορετικές μορφές BNP αλλά και ανίχνευση proBNP στο περιφερικό αίμα (γλυκοζυλιωμένο ή μη)

Μεταξύ Biomedica/Roche NT-proBNP:

$r = 0,84$ ΩΚΚ (n=40)

$r = 0,67$ (n=384 healthy+348 HF patients)

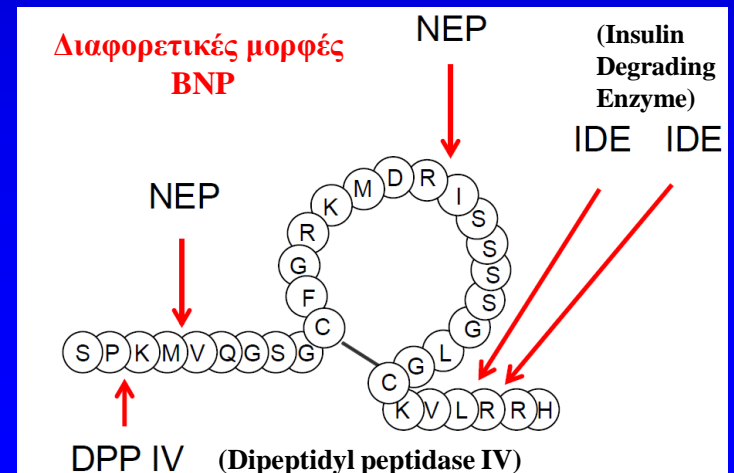
Passing-Bablok regression:

$$\log_{\text{Biomedica}} = 0,35 \cdot \log_{\text{Roche}} + 2,69$$

Average 52% higher values than Roche
(Bland-Altman plots)

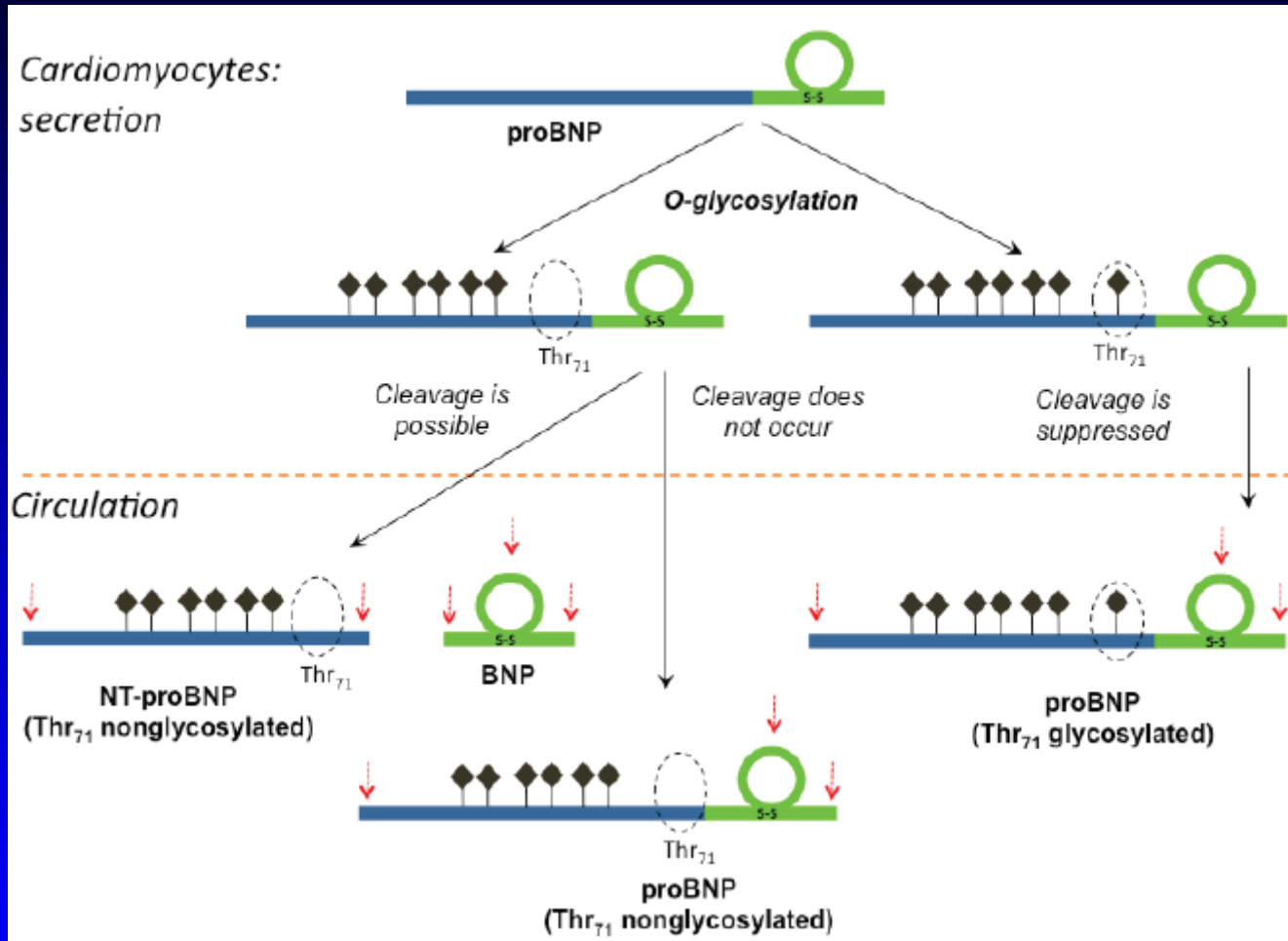
Also Roche Elecsys and Dade NT-proBNP assays 15-22% non-agreement!!

Hammerer-Lercher A. et al., CCLM 2009;47:1305-8



Circulating proBNP

Thr36
Ser37
Ser44
Thr48
Ser53
Thr58
Thr71



Ακοπο proBNP στην κυκλοφορία (σημαντικά μειωμένη ενεργότητα)
Ρόλος γλυκοζυλίωσης? «Βιοδιαθεσιμότητα» BNP όταν δεν είναι γλυκοζυλιωμένη η Θρεονίνη 71

Κλινική αξία δοκιμασιών BNP/NT-proBNP

- **Διαγνωστική Χρήση**

- Διάγνωση και ταξινόμηση καρδιακής ανεπάρκειας
- Εκτίμηση της οξείας δύσπνοιας στο Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών (ΤΕΠ)
- Διάγνωση ασυμπτωματικής δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας (LVD)

- **Προγνωστική Χρήση**

- Στην καρδιακή ανεπάρκεια
- Μετά από οξεία στεφανιαία επεισόδια

- **Επιλογή και παρακολούθηση θεραπείας**

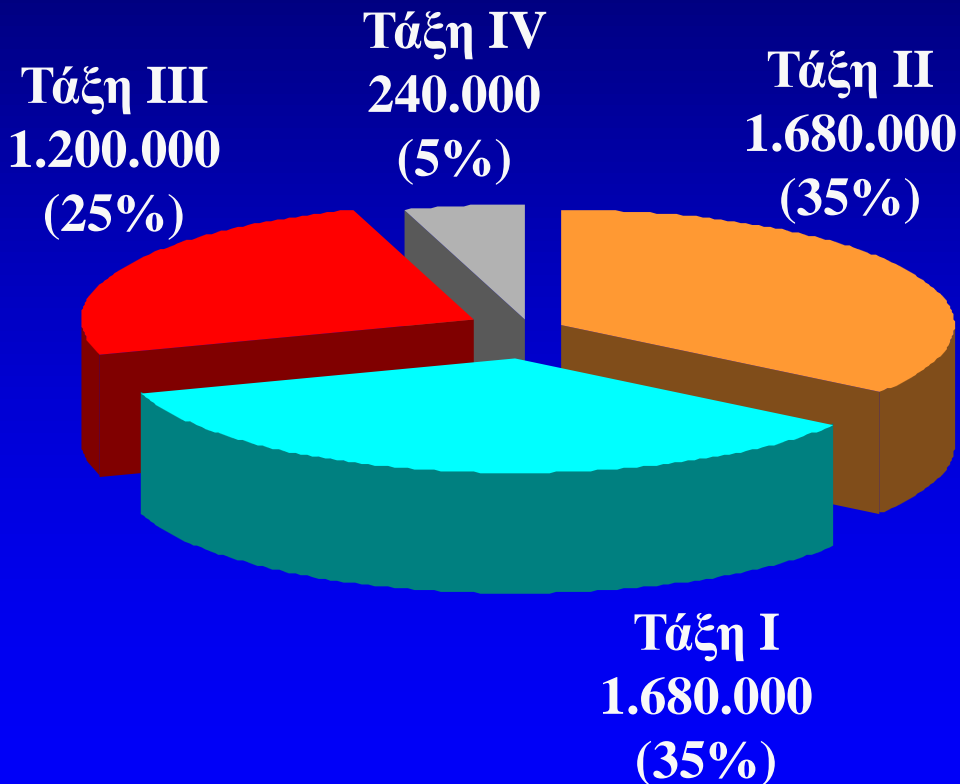
Καρδιακή ανεπάρκεια

(CHF, Congestive (mostly chronic) Heart Failure)

ΝΥΗΑ Σύστημα Ταξινόμησης

5 εκατ. ασθενείς στις ΗΠΑ (500.000 κάθε έτος)

Διάδοση νοσήματος (0,4-2%)



Τάξη I

Ουδείς περιορισμός φυσικής δραστηριότητας

Τάξη II

Μικρός περιορισμός φυσικής δραστηριότητας

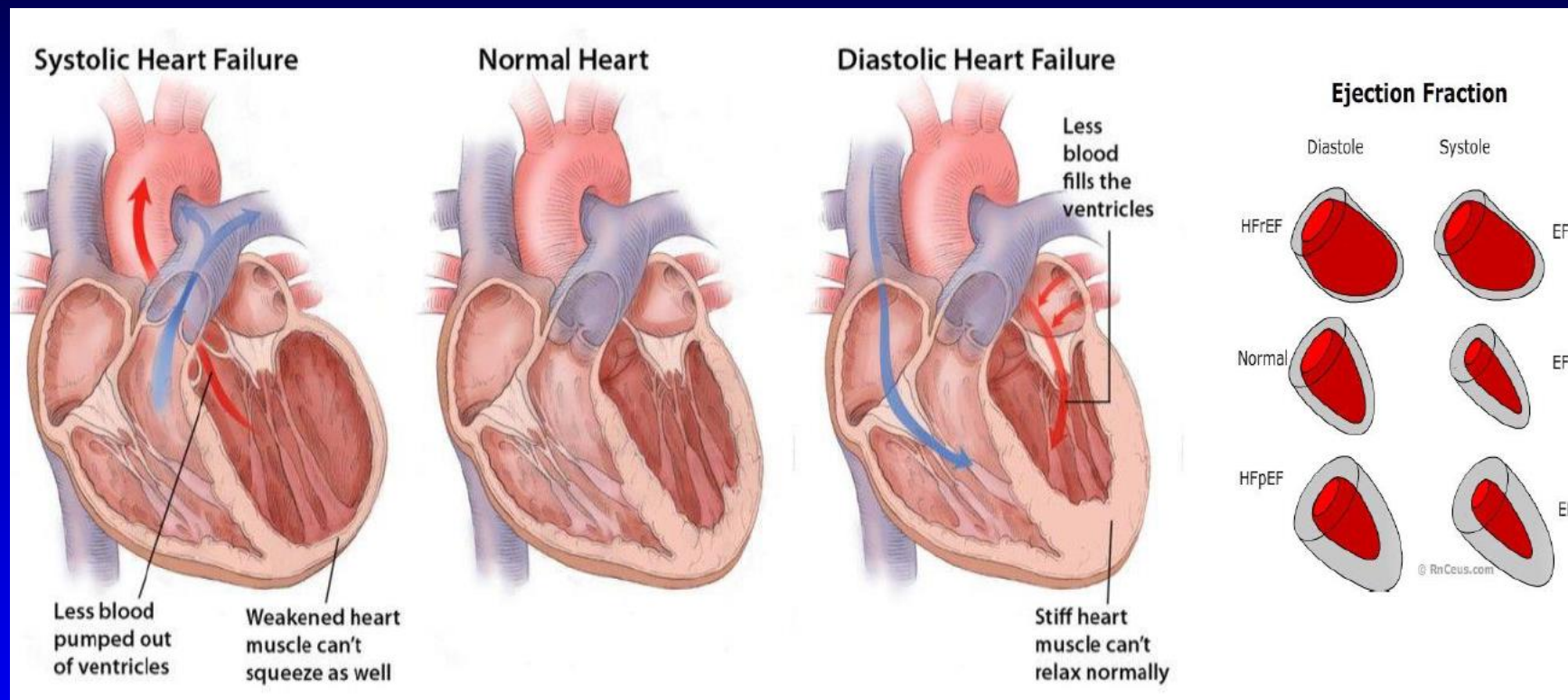
Τάξη III

Σημαντικός περιορισμός φυσικής δραστηριότητας

Τάξη IV

Αδυναμία εκτέλεσης φυσικής δραστηριότητας

Συστολική/διαστολική καρδιακή ανεπάρκεια



EF (ejection fraction): κλάσμα εξώθησης

HF_pEF (Heart Failure **preserved** Ejection Fraction)

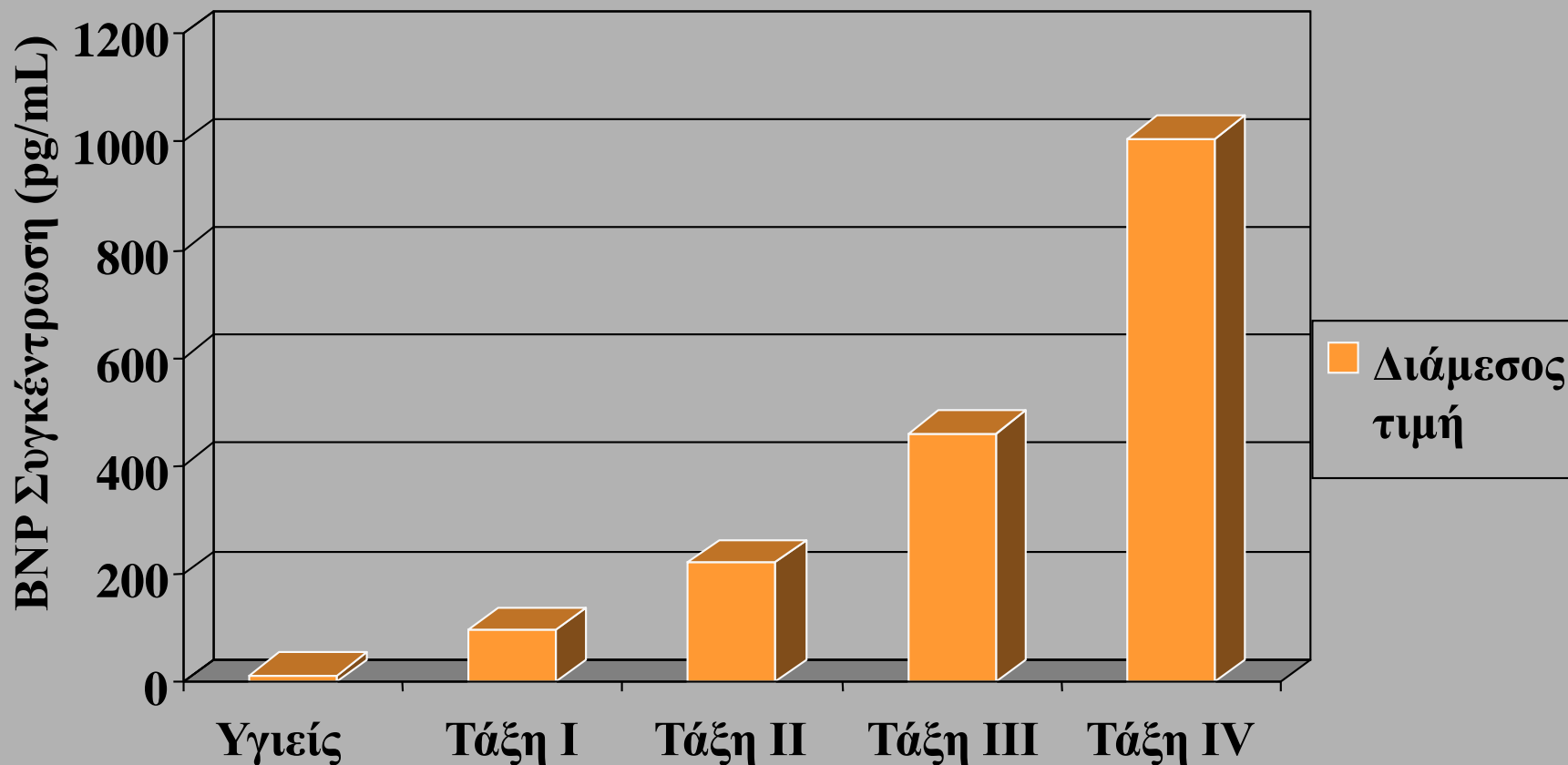
HF_mEF (Heart Failure **mid-range** Ejection Fraction)

HF_rEF (Heart Failure **reduced** Ejection Fraction)

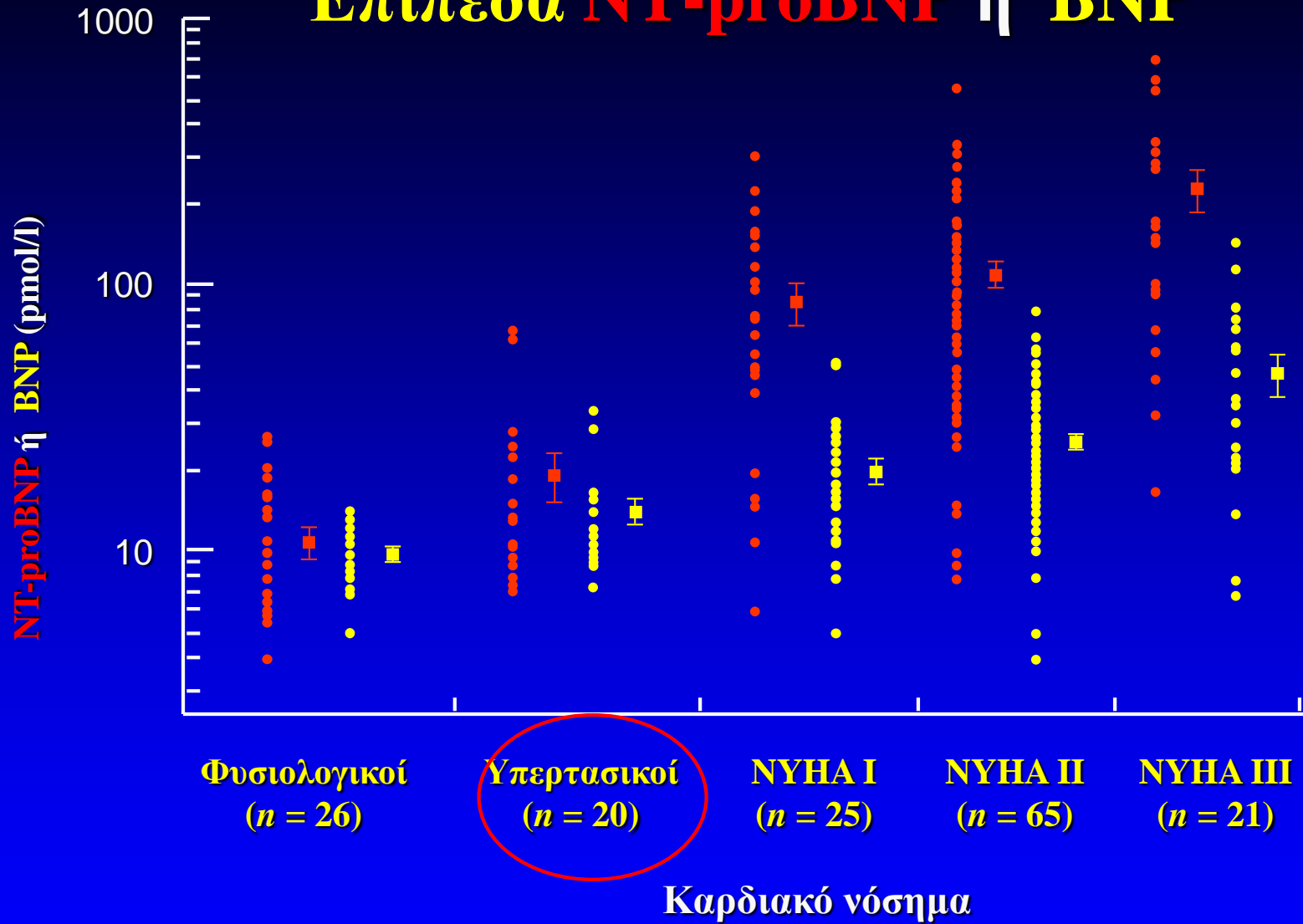
BNP/NT-proBNP στη διάγνωση καρδιακής ανεπάρκειας (CHF)

- Ορισμός καρδιακής ανεπάρκειας ευρύς - συμπτώματα μη-ειδικά
- Απαραίτητη η έγκαιρη διάγνωση και η επιθετική φαρμακευτική αγωγή
- Σε <40% των ασθενών που παρουσιάζονται με συμπτώματα σε τακτική ιατρική επίσκεψη επιβεβαιώνεται τελικά η διάγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας
- Υπόλοιπο 60% υποβάλλεται σε περιττές, χρονοβόρες, ιδιαίτερα ακριβές και απαιτητικές εξετάσεις
- Μεγάλο ποσοστό ασυμπτωματικών ασθενών διαφεύγει της απαραίτητης ιατρικής αντιμετώπισης (συνήθως στις κατηγορίες I και II - 70% των ασθενών)

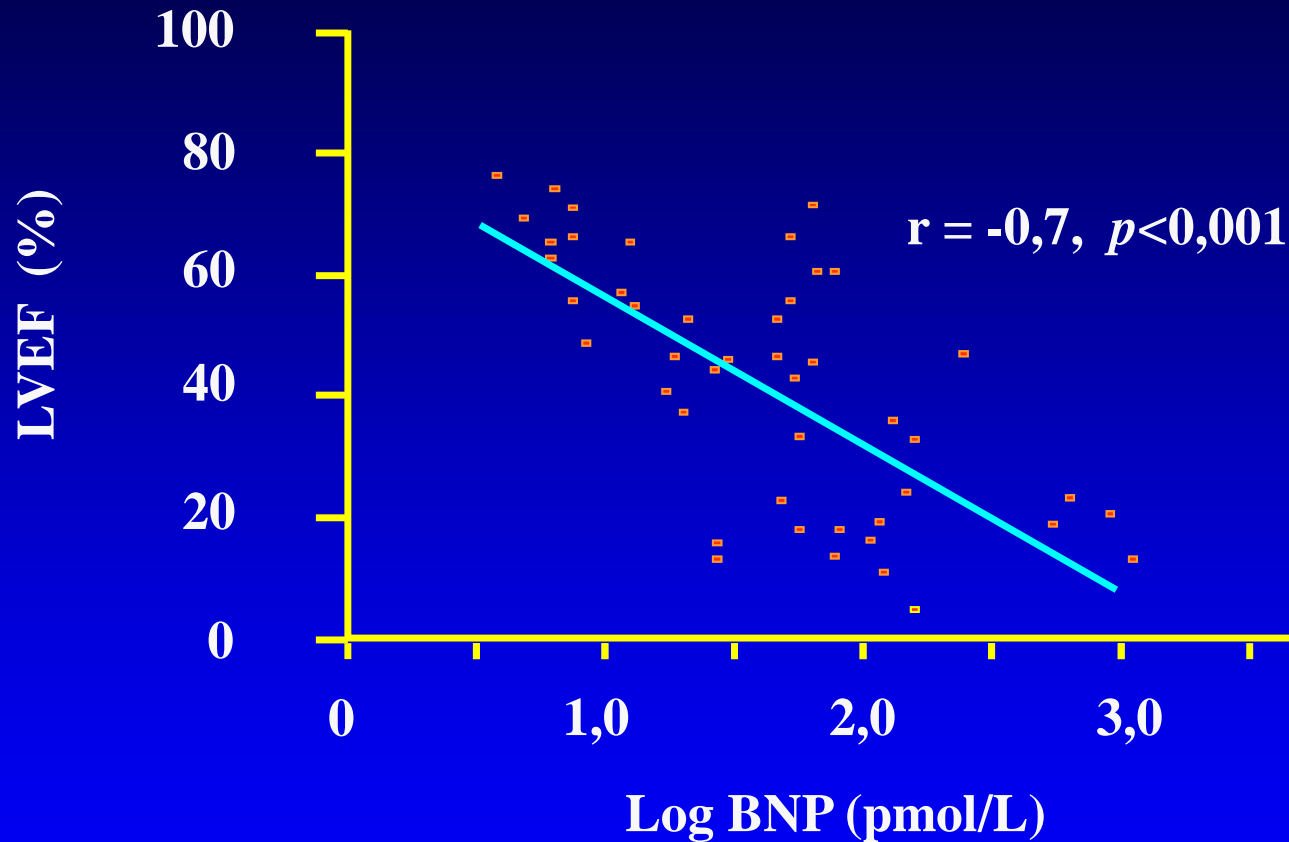
Διάγνωση και Ταξινόμηση Καρδιακής ανεπάρκειας



Επίπεδα NT-proBNP ή BNP



BNP vs. EF (ejection fraction) στην υπερηχοκαρδιογραφία



Συσχετισμός επίσης και με LVEDP

Σημαντική Συνεισφορά BNP (ή NT-proBNP) στην ακριβή διάγνωση, επιβεβαίωση και ταξινόμηση της καρδιακής ανεπάρκειας

ως ένα γρήγορο βιοχημικό τεστ είτε μονήρες
είτε σε συνδυασμό με μια απεικονιστική μέθοδο

[υπερηχοκαρδιογραφία Triplex (ή μαγνητική τομογραφία MRI)]

[υπάρχουν και ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια αλλά φυσιολογικό LVEF (HFpEF):
ένα από τα 3 κριτήρια πλέον, είναι η μέτρηση αυξημένων επιπέδων BNP (ή NT-proBNP)]

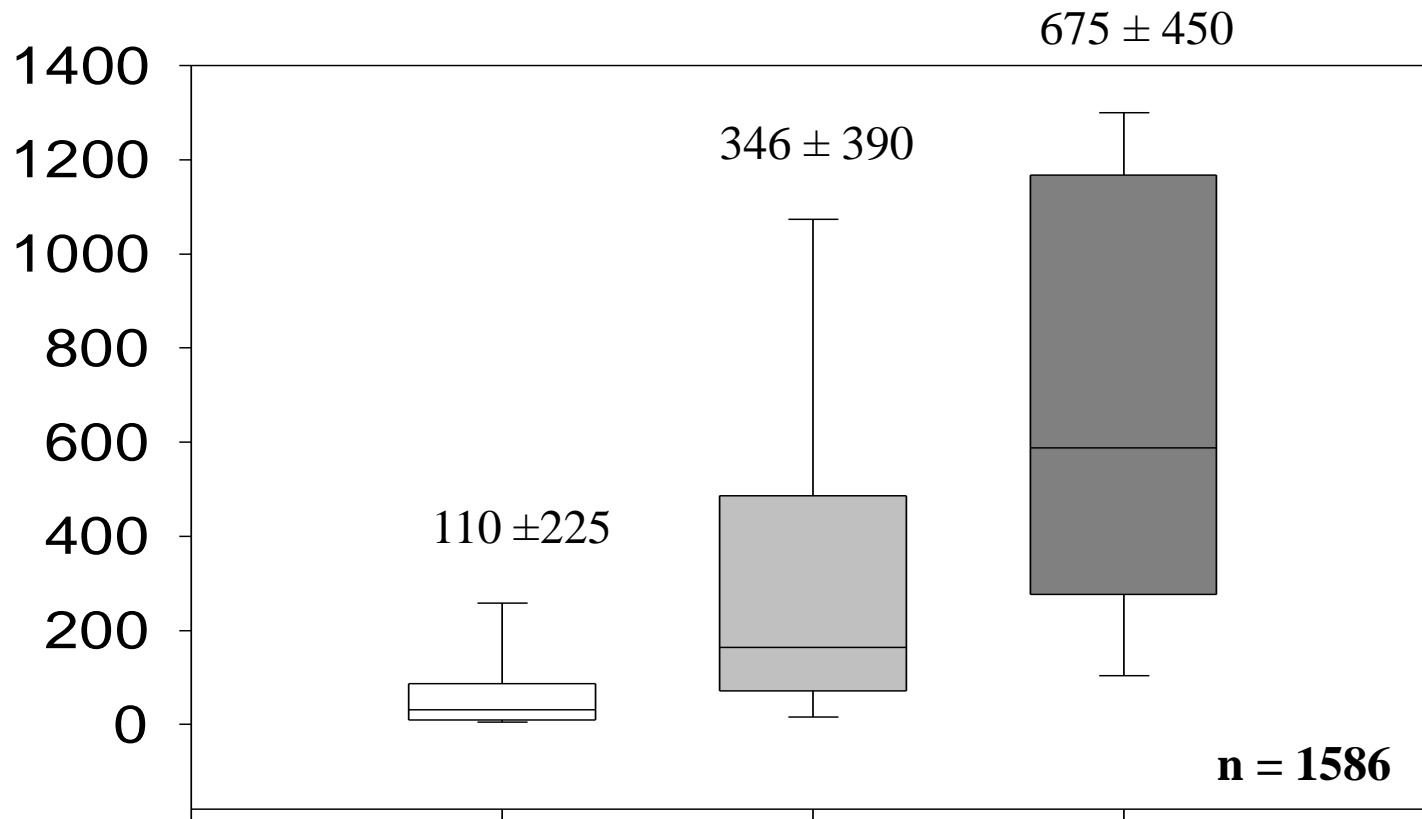
Ponikowski P. et al., European Journal of Heart Failure 2016; 37:2129-200

A) Διαγνωστική χρήση στον έλεγχο πληθυσμών υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας

- ασθενείς με μεσογειακή αναιμία
- καρκινοπαθείς (καρδιοτοξικότητας ορισμένων χημειοθεραπευτικών σχημάτων)
- ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια ή διαβήτη
- ασθενείς που έχουν υποστεί έμφραγμα
- στους ηλικιωμένους

β) Διαγνωστική χρήση BNP στην εκτίμηση της οξείας δύσπνοιας στο ΤΕΠ

Συγκέντρωση BNP (pg/mL)



Μη-CHF
δύσπνοια

Ιστορικό LVD
(μη-καρδιακός
λόγος)

CHF-Δύσπνοια

n = 770

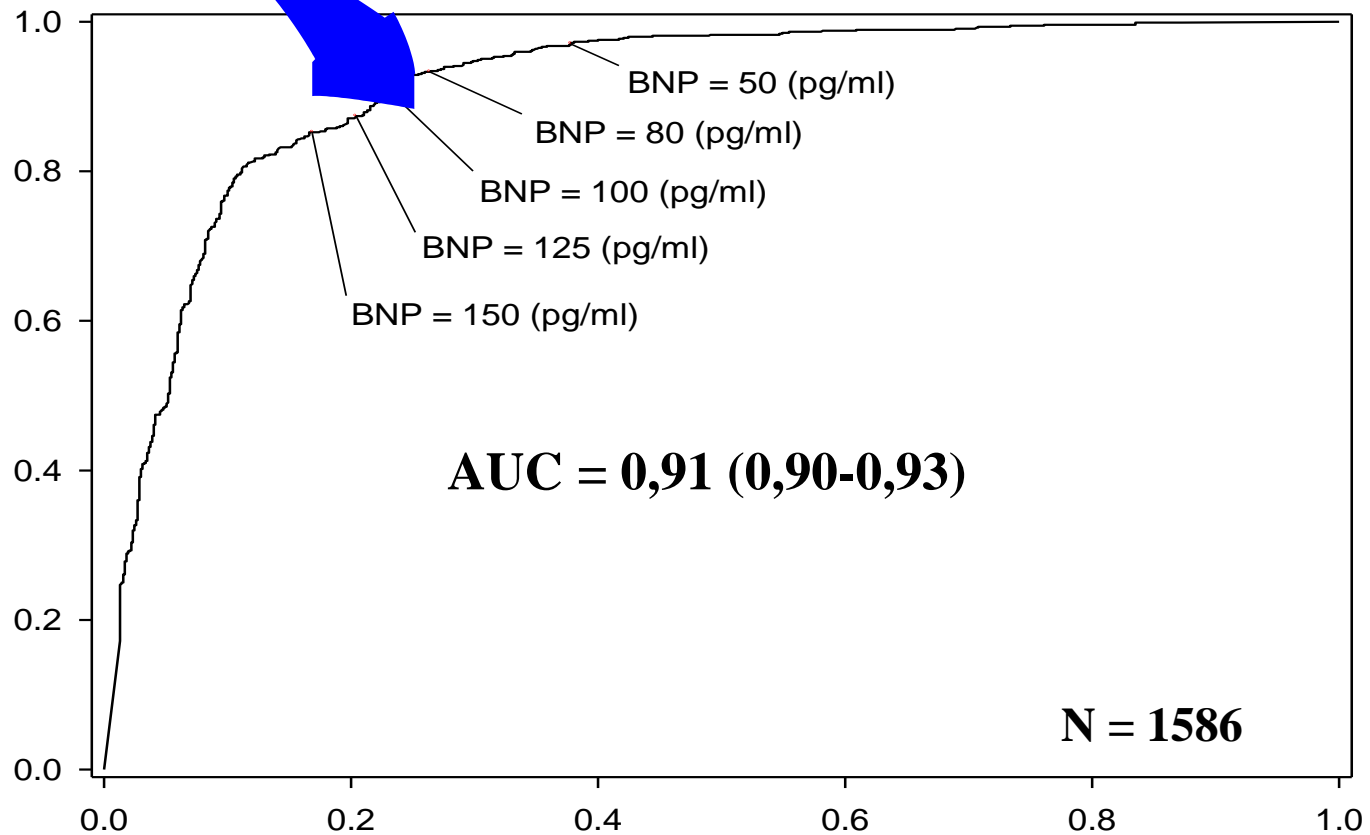
n = 72

n = 744

Καμπύλη ROC για τη χρήση BNP στην οξεία δύπνοια λόγω CHF

Βέλτιστη διαγνωστική ακρίβεια BNP στο όριο των 100 pg/ml

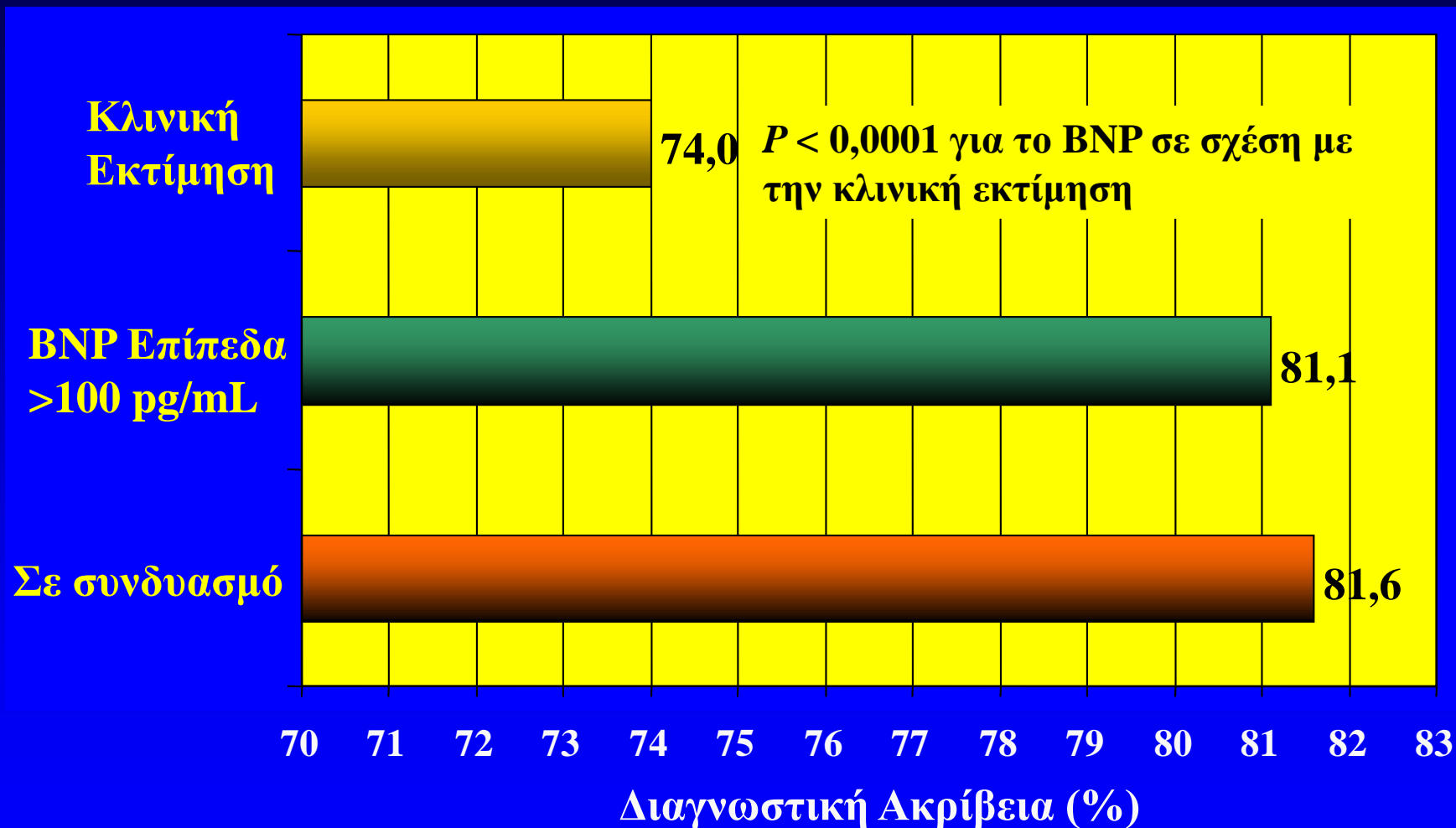
Ευαισθησία



Απόφαση για το όριο BNP

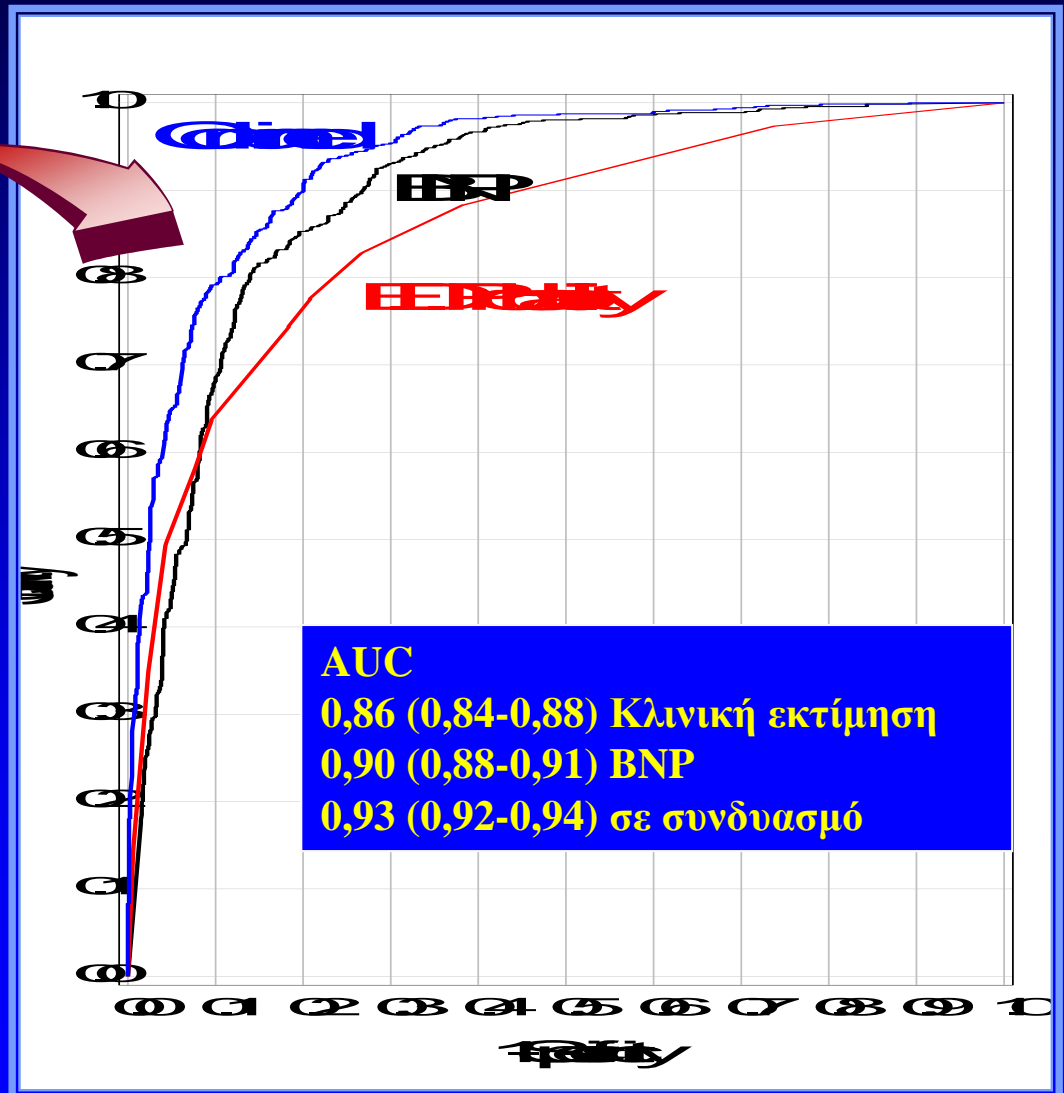
BNP (pg/mL)	Ευαισθησία (%)	Ειδικότητα (%)	Θετική Προβλεπτική Αξία PPV (%)	Αρνητική Προβλεπτική Αξία NPV (%)
50	97 (96-98)	62 (59-66)	71 (68-74)	96 (94-97)
80	93 (91-95)	74 (70-77)	77 (75-80)	92 (89-94)
100	90 (88-92)	76 (73-79)	79 (76-81)	89 (87-91)
125	87 (85-90)	79 (76-82)	80 (78-83)	87 (84-89)
150	85 (82-88)	83 (80-85)	83 (80-85)	85 (83-88)

Διάγνωση καρδιακής ανεπάρκειας (ΤΕΠ)

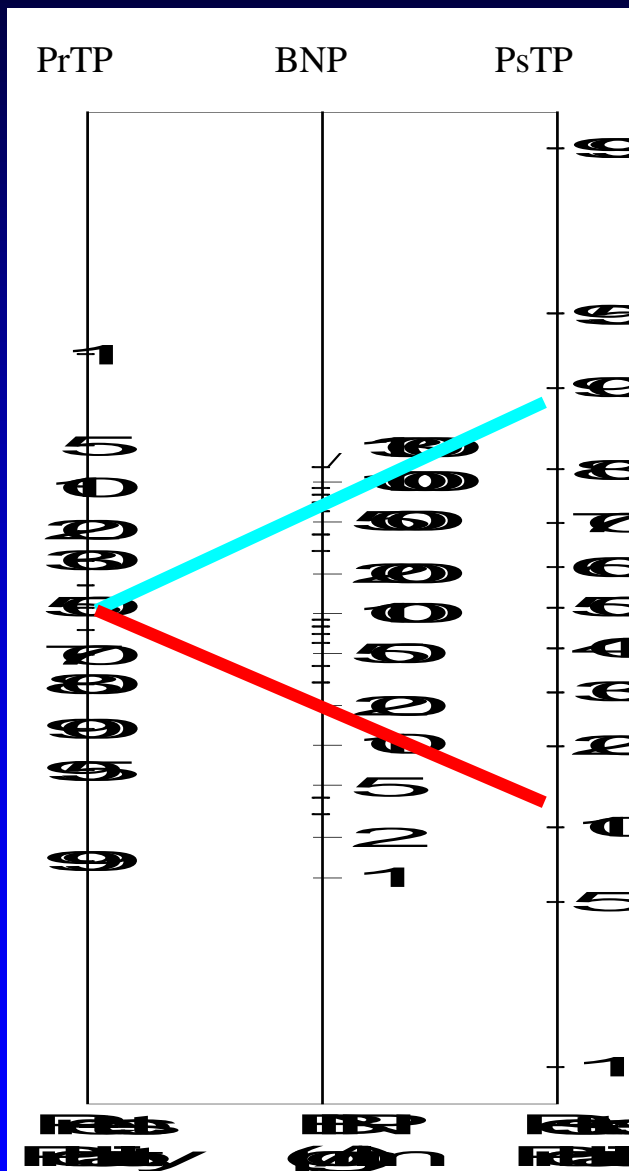


Το BNP σε συνδυασμό με την κλινική εκτίμηση για τη διάγνωση καρδιακής ανεπάρκειας στο ΤΕΠ

Με το BNP βελτιώνεται η διαγνωστική ακρίβεια



Νομόγραμμα διάγνωσης καρδιακής ανεπάρκειας με τη βοήθεια του BNP στο ΤΕΠ



Σε ασθενείς με πιθανότητα 50%

-BNP 1000 pg/mL

-BNP 20 pg/mL

(αποκλεισμός καρδιακής ανεπάρκειας)

NT-proBNP στο ΤΕΠ

Single rule-out

Optimal Cut-off	Sens	Spec	NPV	PPV	Accuracy
< 300 pg/mL (age independent)	99 %	60 %	98 %	77 %	83 %
> 450 pg/mL (age < 50 years)	97 %	93 %	99 %	76 %	94 %
> 900 pg/mL (age 50 – 75 years)	90 %	82 %	88 %	83 %	85 %
> 1,800 pg/mL (age > 75 years)	85 %	73 %	55 %	92 %	83 %
HF unlikely NT-proBNP < 300 pg/mL Search for other symptoms	Grey zone NT-proBNP > 300 pg/mL but under “rule-in” cut-offs Diagnosis by imaging		HF likely Confirmation by imaging > 450 pg/mL if < 50 years > 900 pg/mL if 50 – 75 years < 1,800 pg/mL if > 75 years		

Stratified rule-in

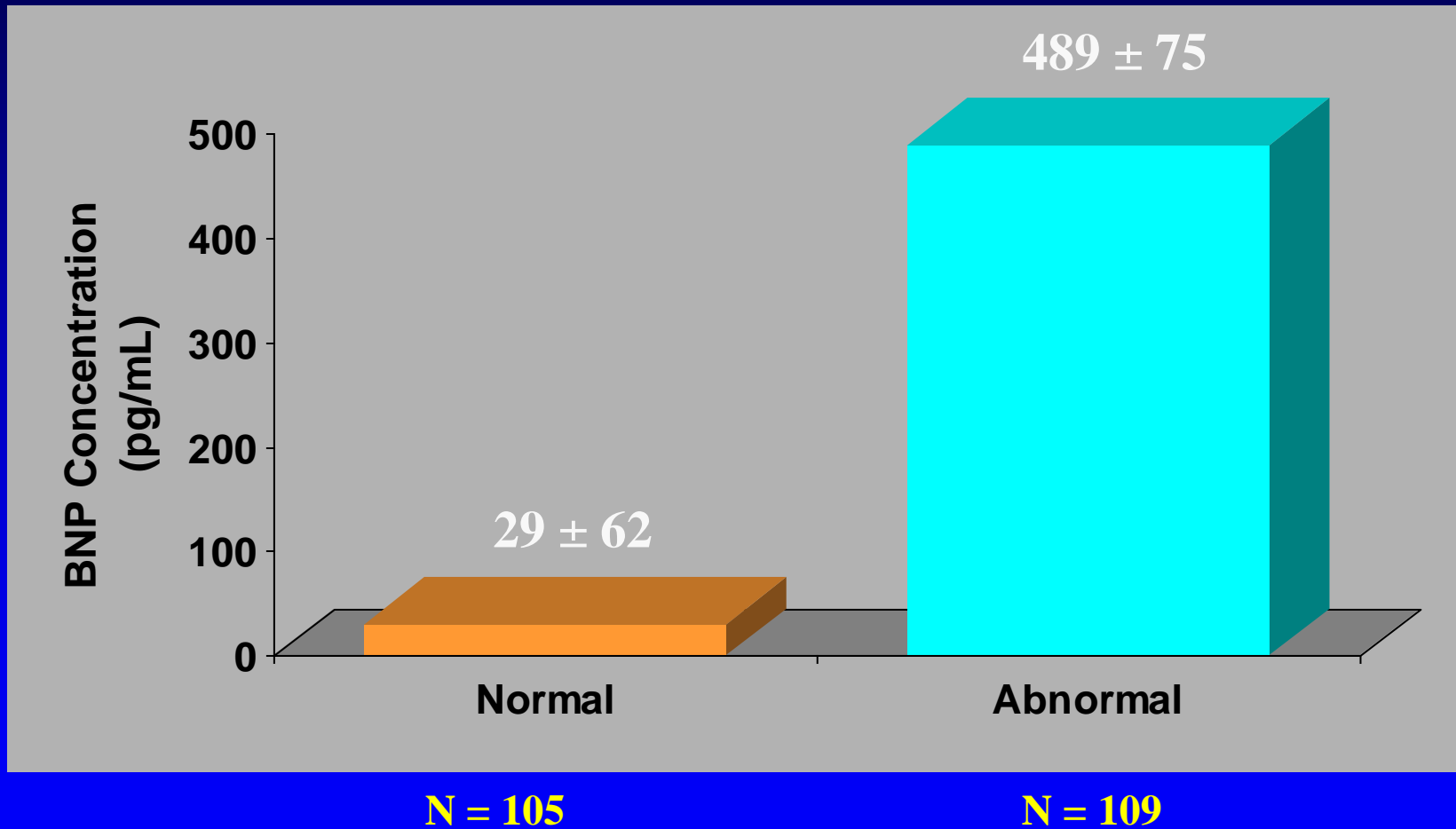
PRIDE & ICON-Reloaded studies

Januzzi J.L. et al. Am J Cardiol 2005;95:948-54, Eur Heart J 2006;27:330–7 and JACC 2018;71:1191-200

Recommendations	Class ^a	Level ^b
Upon presentation a measurement of plasma natriuretic peptide level (BNP, NT-proBNP or MR-proANP) is recommended in all patients with acute dyspnoea and suspected AHF to help in the differentiation of AHF from non-cardiac causes of acute dyspnoea.	I	A

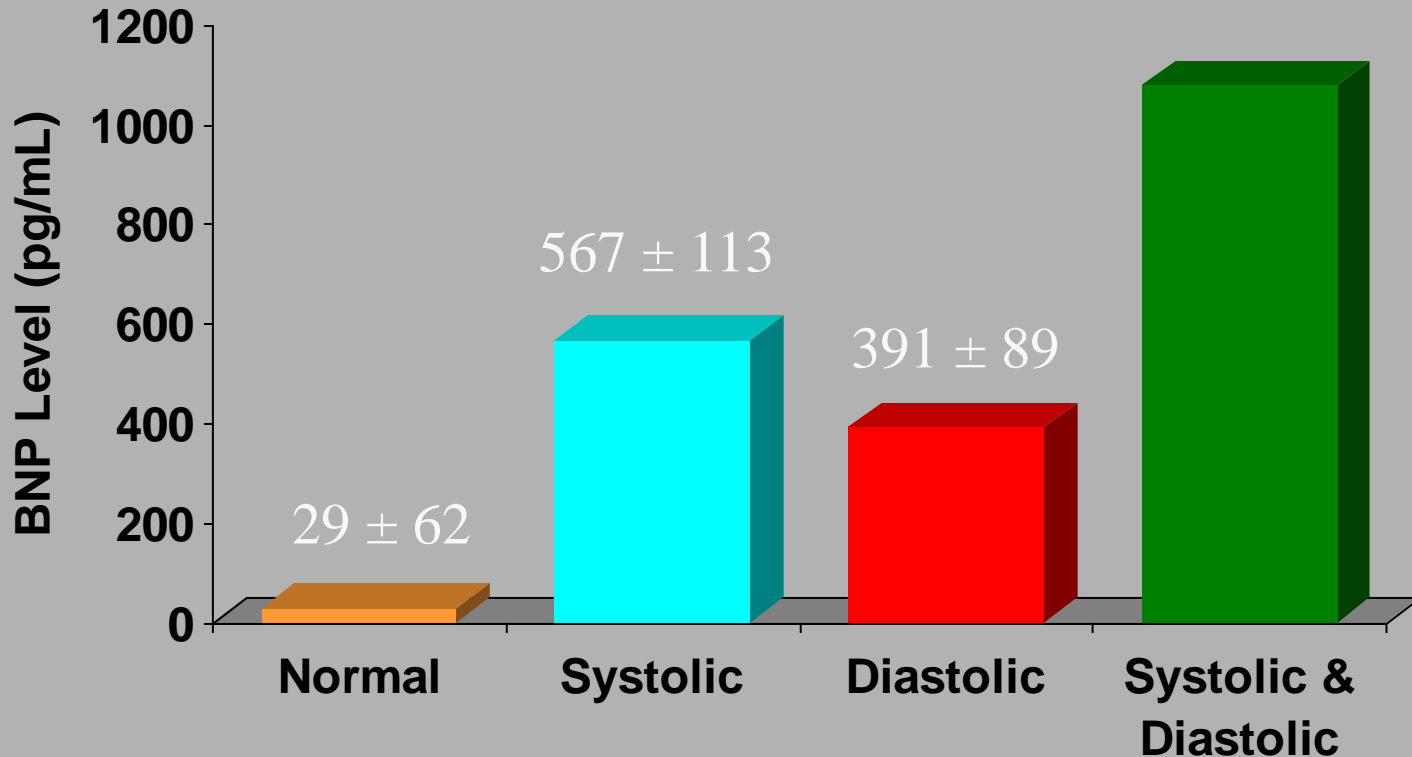
Ponikowski P. et al., European Journal of Heart Failure 2016; 37:2129-200

Διαγνωστική χρήση BNP στην LVD (left-ventricular dysfunction)



BNP στην διάγνωση LVD

1077 ± 272



N = 105

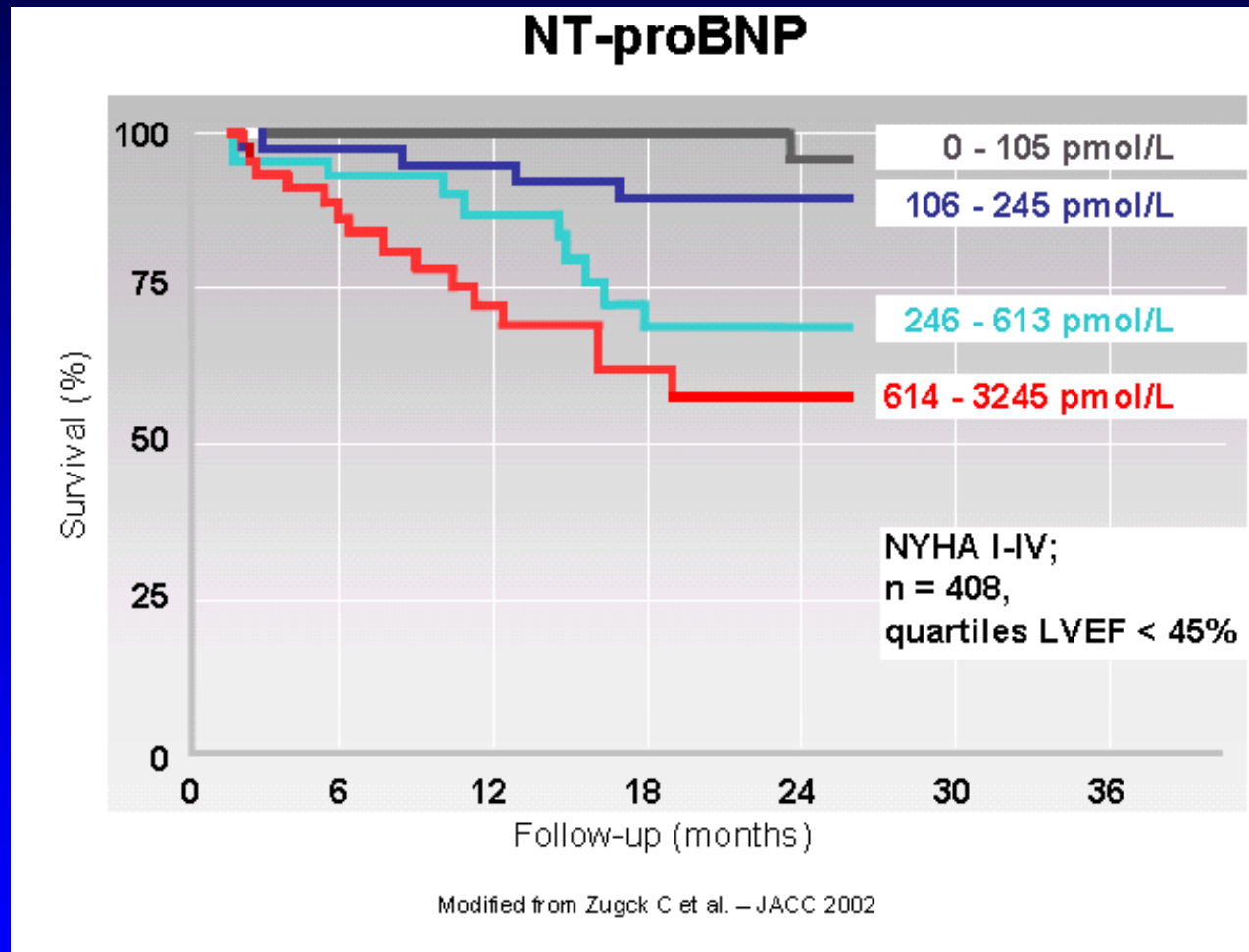
N = 53

N = 42

N = 14

Δοκιμασία ελέγχου (screening) σε ομάδες υψηλού κινδύνου?

Προγνωστική αξία επιπέδων BNP/NT-proBNP σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια

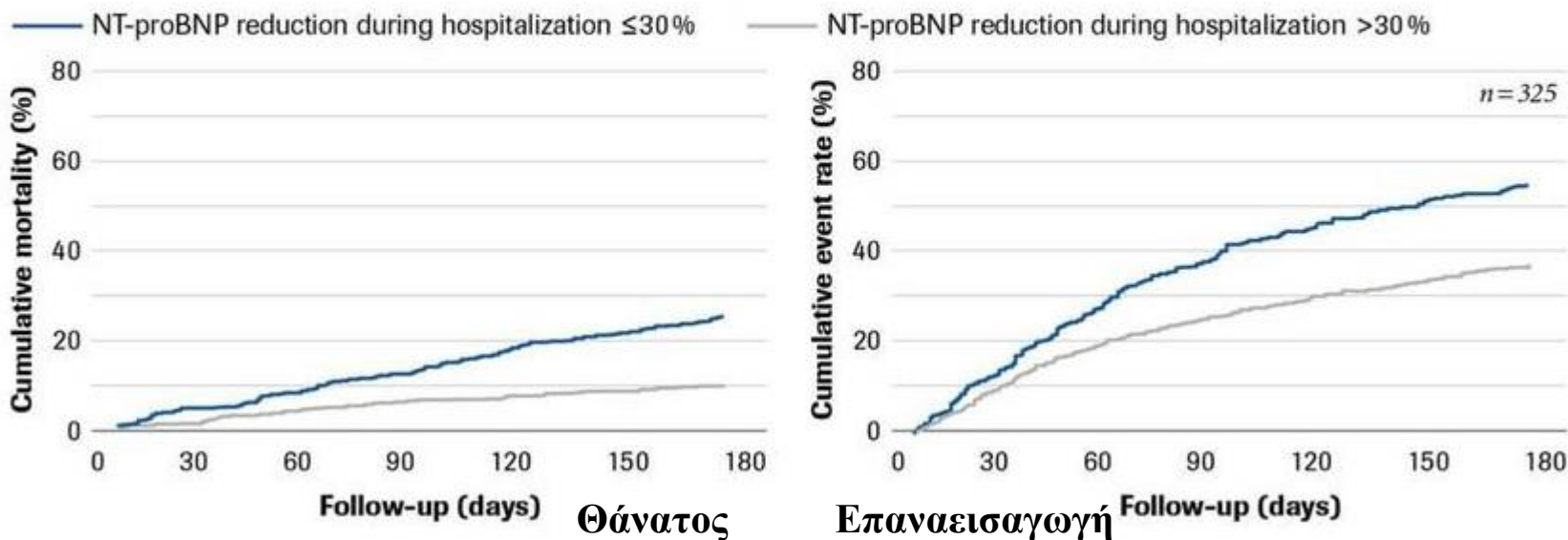


Επιθετικότερη αγωγή? Μεταμόσχευση καρδιάς?

Προγνωστική αξία NT-proBNP στην οξεία μη-αντιρροπούμενη καρδιακή ανεπάρκεια

n=1301 HF ασθενείς (από 7 διαφορετικές μελέτες), 6 μήνες follow-up

Composite event rate was higher in patients with a percentage reduction in NT-proBNP $\leq 30\%$ compared with $>30\%$

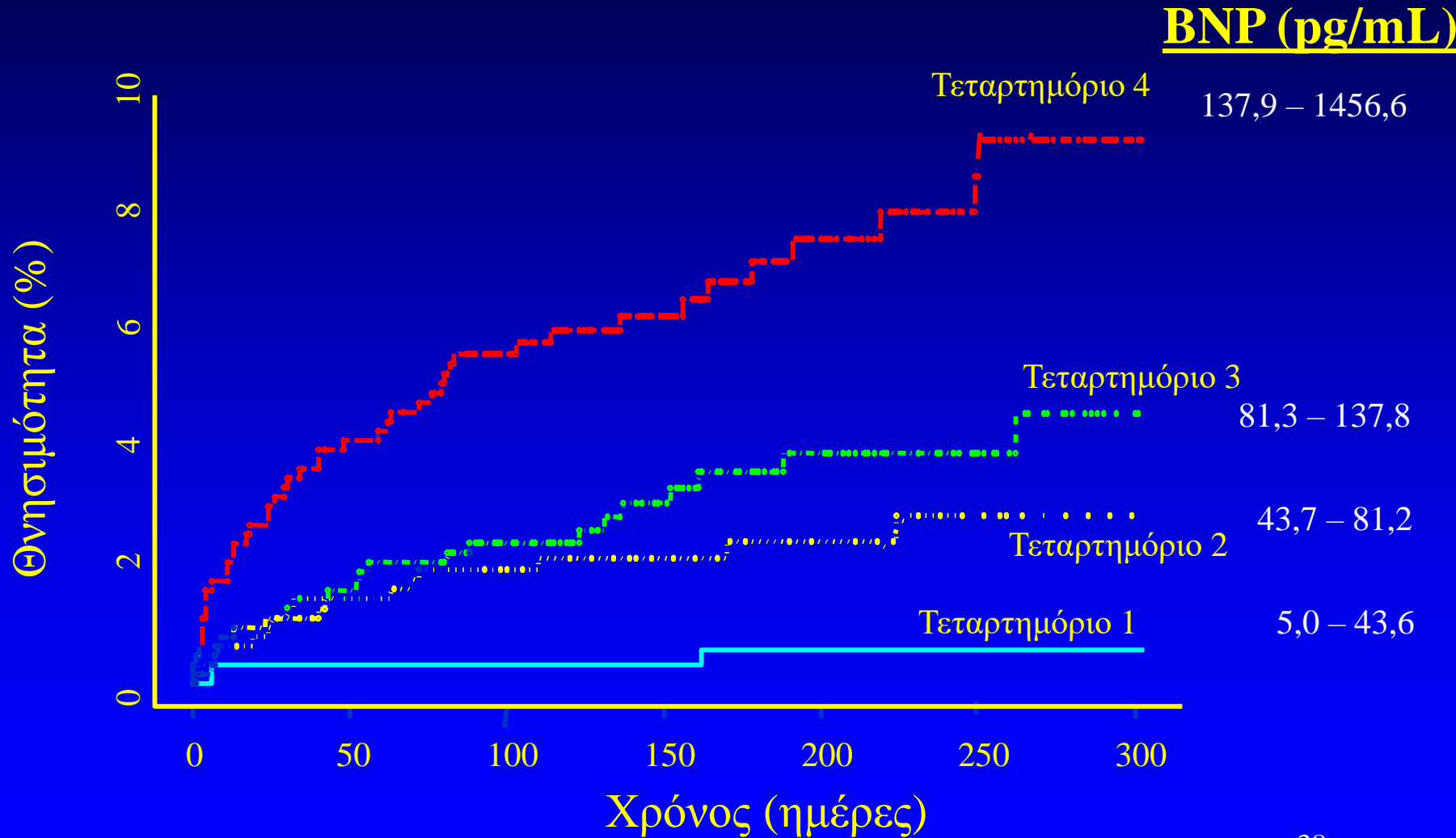


Διαφορά στη τιμή NT-proBNP μεταξύ εισαγωγής και εξιτηρίου [είτε ποσοστιαία $>30\%$ είτε σε απόλυτη τιμή <1000 pg/mL (ιδανικά)]

Bettencourt, P. et al., *Circulation* 2004;110:2168-74

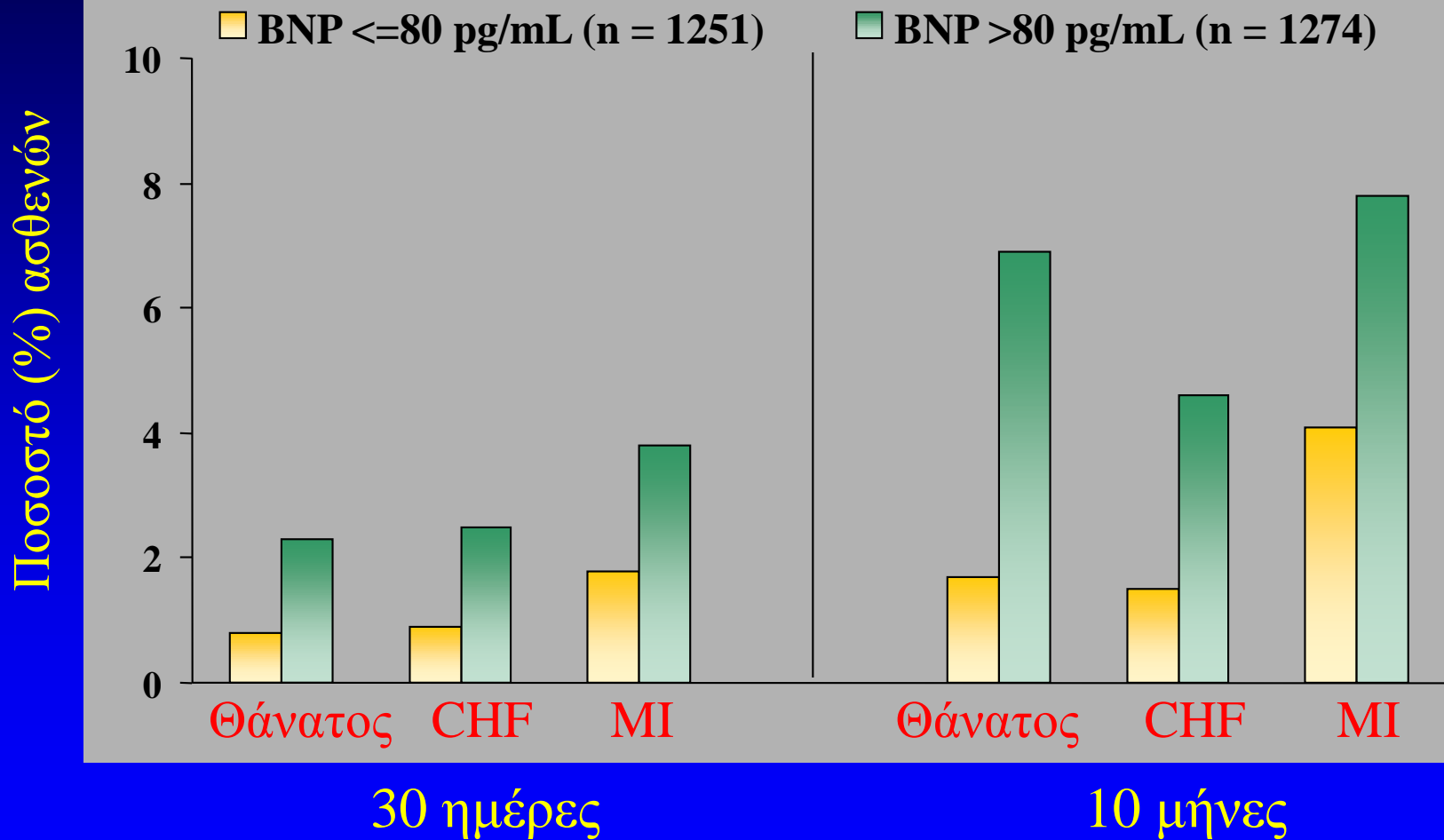
Salah K. et al., *Heart* 2014;100:115-25

Προγνωστική αξία BNP μετά από οξεία στεφανιαία επεισόδια (εμφράγματα μυοκαρδίου, ασταθή στηθάγχη)

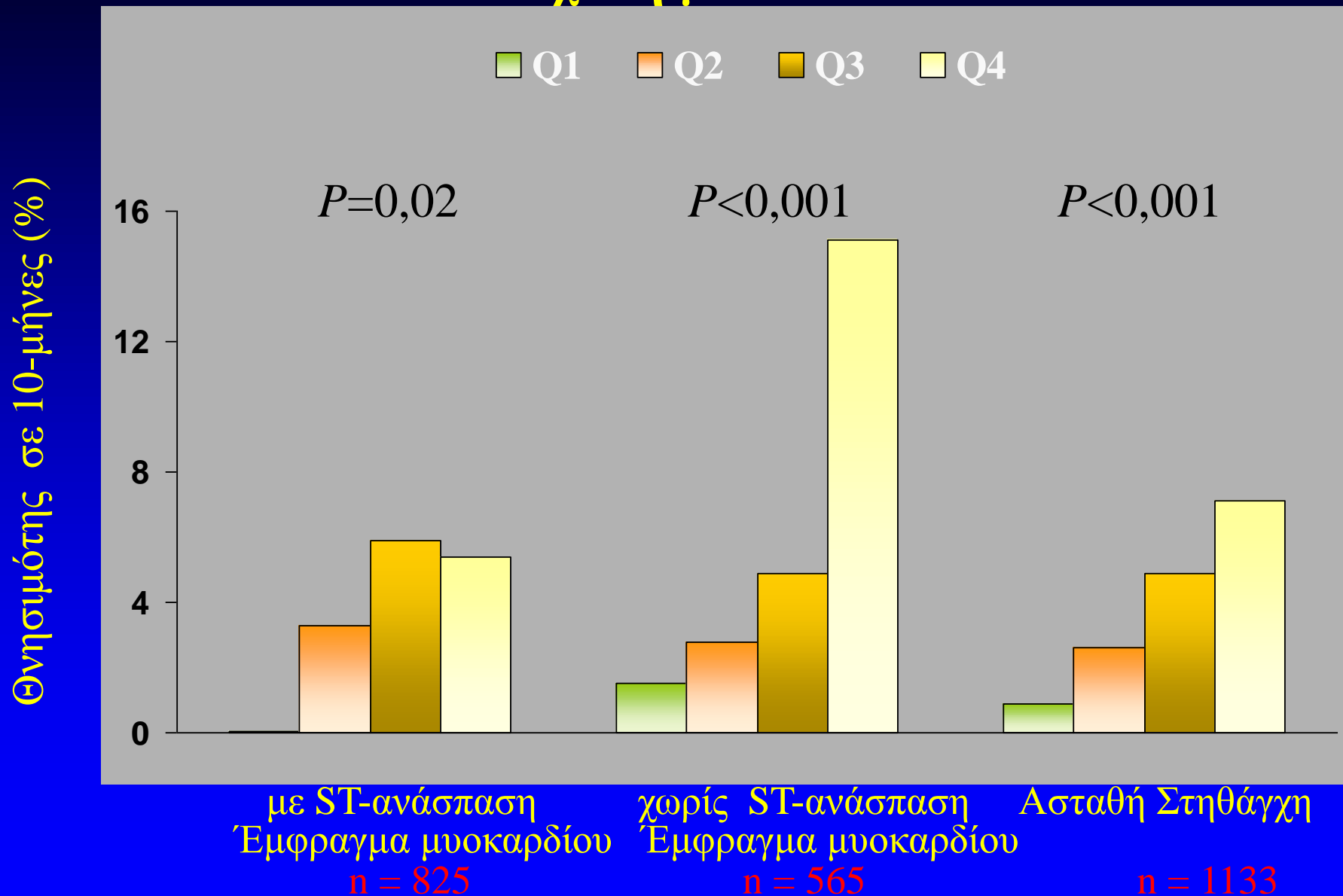


Τελικά σημεία μετά από οξύ στεφανιαίο επεισόδιο με όριο BNP 80 pg/mL

$p < 0,005$ σε κάθε σύγκριση

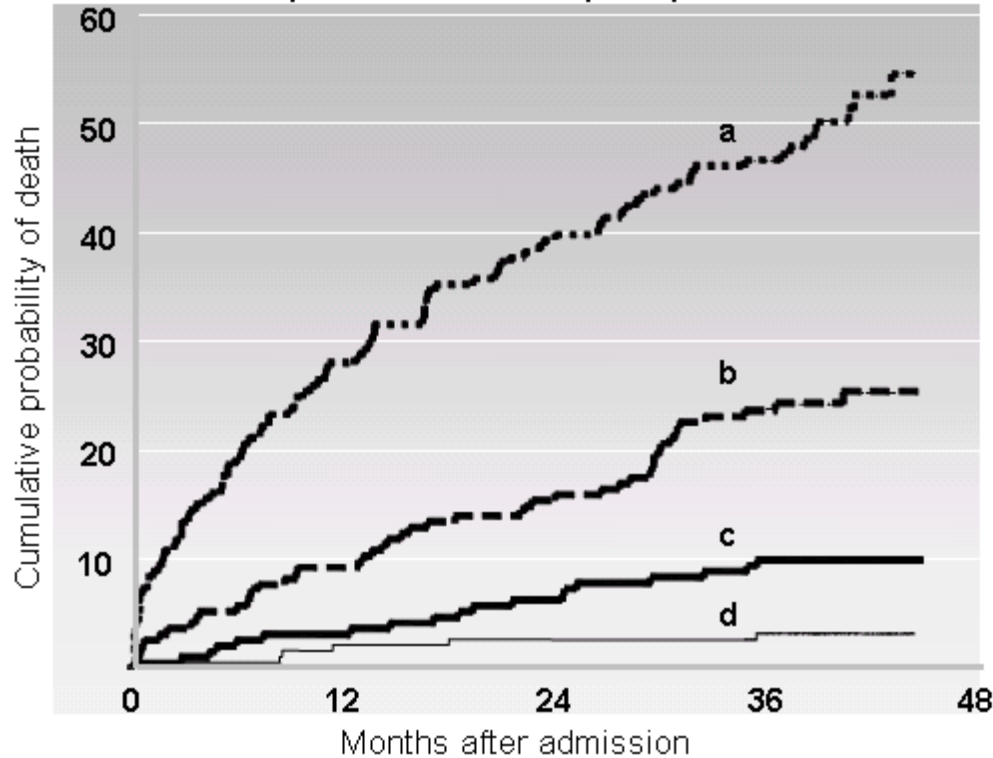


Θνησιμότητα μετά από οξεία στεφανιαία σύνδρομα (ACS) σε σχέση με το BNP



Σχετικός κίνδυνος μετά από έμφραγμα χωρίς ST ανάσπαση

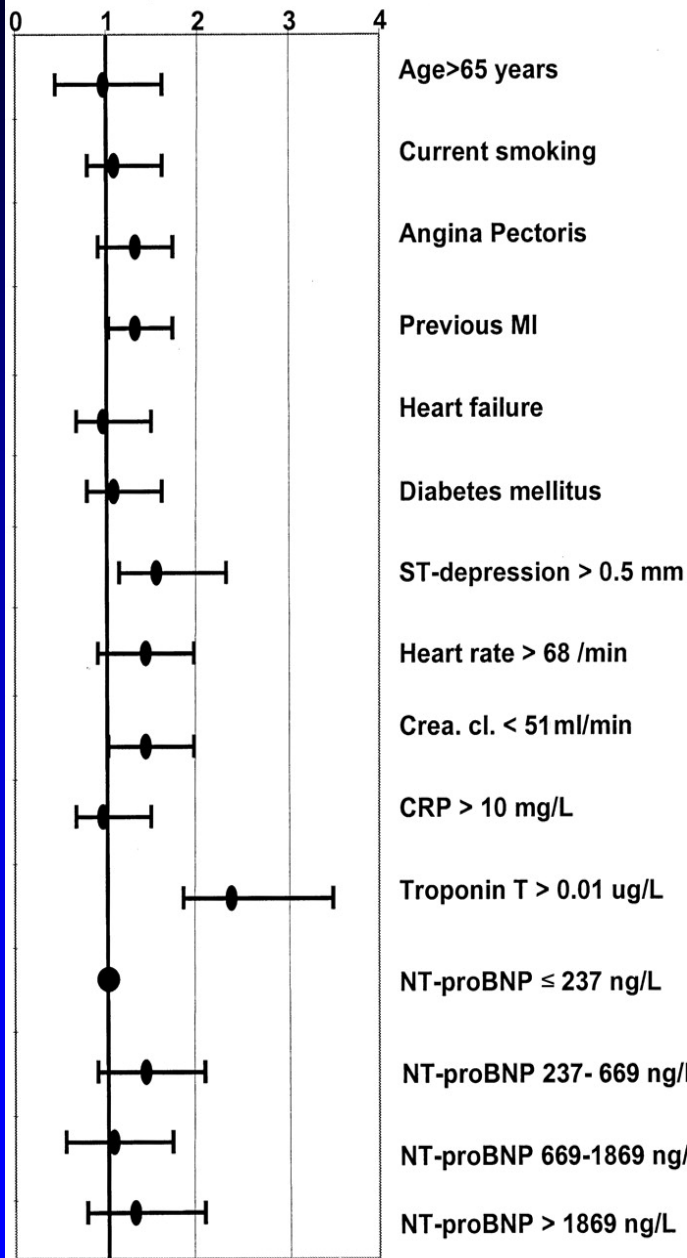
Levels of NT-proBNP in chest pain patients with no ST-segment elevation



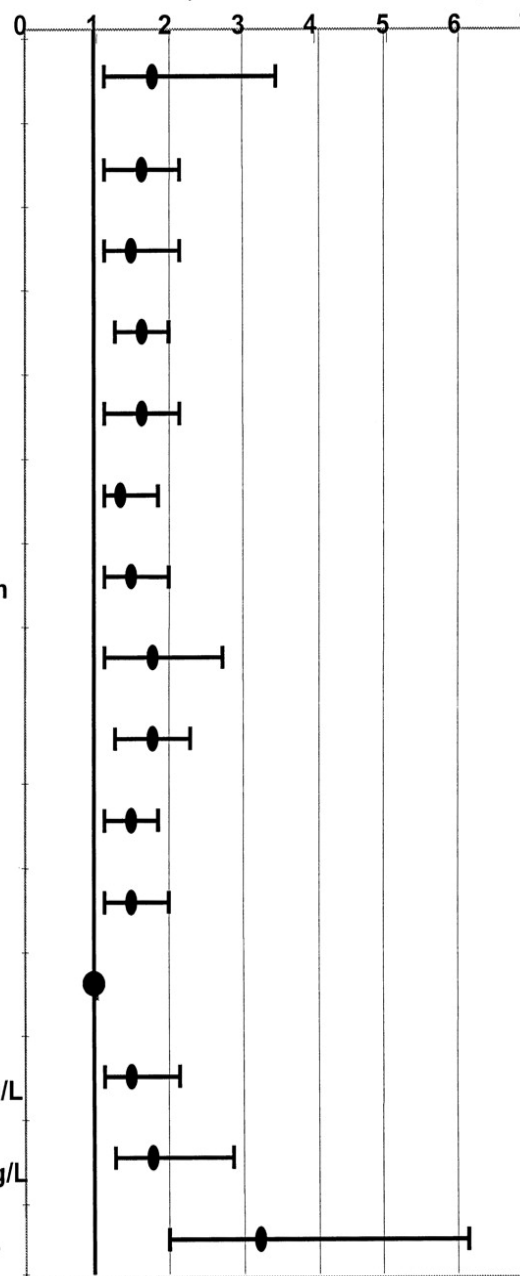
	NT-proBNP (ng/L)	Relative risk
a	≥ 1,654	26.6
b	401 – 1,653	10.7
c	113 – 400	4.2
d	≤ 112	1.0

Jernberg T. et al. - Eur. J. Heart Failure 2004; 6:319-325

Myocardial infarction, 30 days,
Odds ratio (95% confidence interval)



Death 1 year,
Odds ratio (95% confidence interval)



BNP άριστος προγνωστικός δείκτης στη διαστρωμάτωση κινδύνου (risk stratification) μετά από ACS

είτε μόνηρης
είτε σε συνδυασμό
π.χ. CRP, τροπονίνη

Jernberg T. et al., *European J Heart Failure* 2004;6:319-25

Επιλογή και παρακολούθηση θεραπείας

Υψηλά επίπεδα BNP → έναρξη επιθετικής θεραπείας

- *υπάρχει προβλεπτική αξία ως προς την ανταπόκριση σε συγκεκριμένο φάρμακο?*
- *υπάρχει αξία στη παρακολούθηση της θεραπείας μέσω σειριακών μετρήσεων του πεπτιδίου (monitoring) και πόσο συχνά πρέπει να γίνονται αυτές οι μετρήσεις?*
- *μπορεί να αξιολογηθεί κάθε νέα θεραπευτική αντιμετώπιση? (π.χ. LVAD)*
- *μπορεί να γίνει τιτλοδότηση (titration) της δόσης του φαρμάκου?*

Μείωση καρδιακών συμβαμάτων σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια όπου:

Θεραπεία με οδηγό τα επίπεδα NT-proBNP (<200 pmol/L)

vs.

Θεραπεία με οδηγό την κλινική εκτίμηση

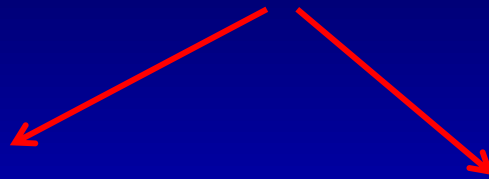
Στοχευμένη θεραπεία

- Ανασυνδυασμένο BNP (nesiritide)
- Ανασυνδυασμένο ANP (carperitide)
- Αναστολείς ενδοπεπτιδάσης NEP (ή αλλιώς neprilysin)
 - omapatrilat (αναστολέας και της ACE)
 - ARNi

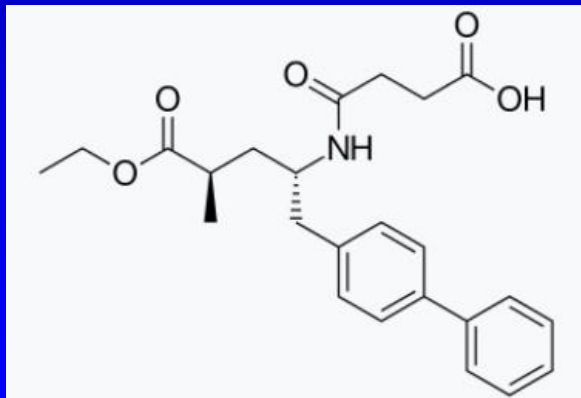
ARNi

Angiotensin Receptor & Neprilysin inhibitor

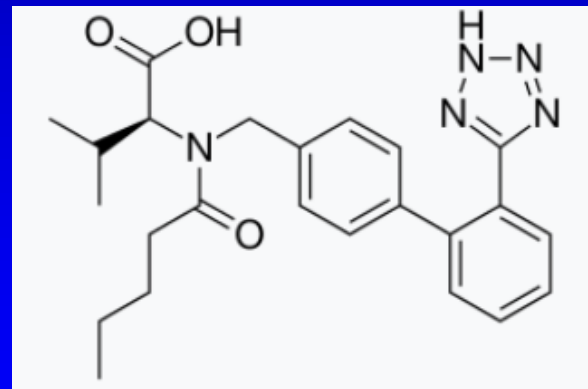
LCZ696 (Entresto®)
two active components 1:1



Neprilysin inhibitor AHU377
(sacubitril)



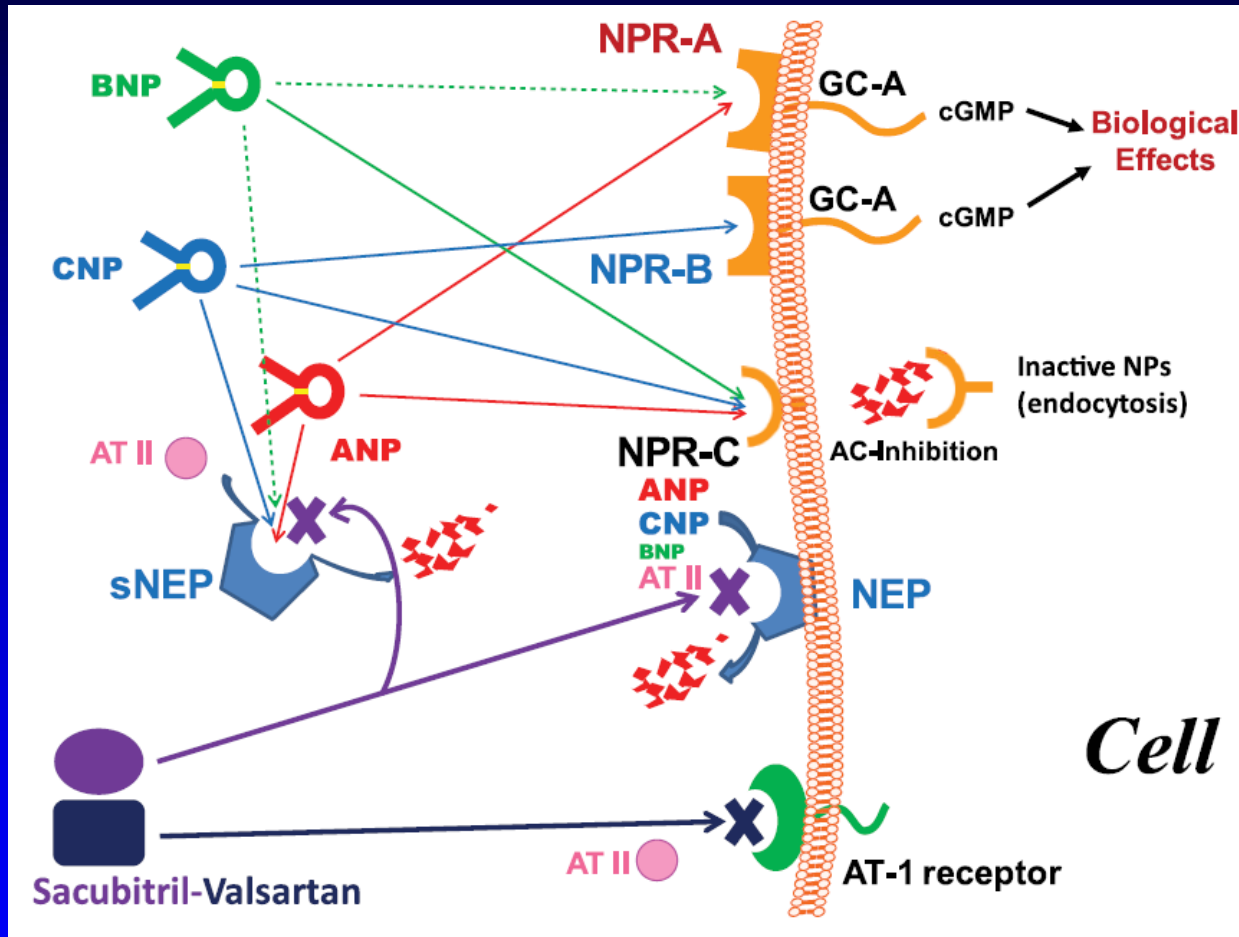
ARB, Angiotensin Receptor type I
Blocker (inhibitor): valsartan



Packer M. et al., Circulation 2016;114:54-61

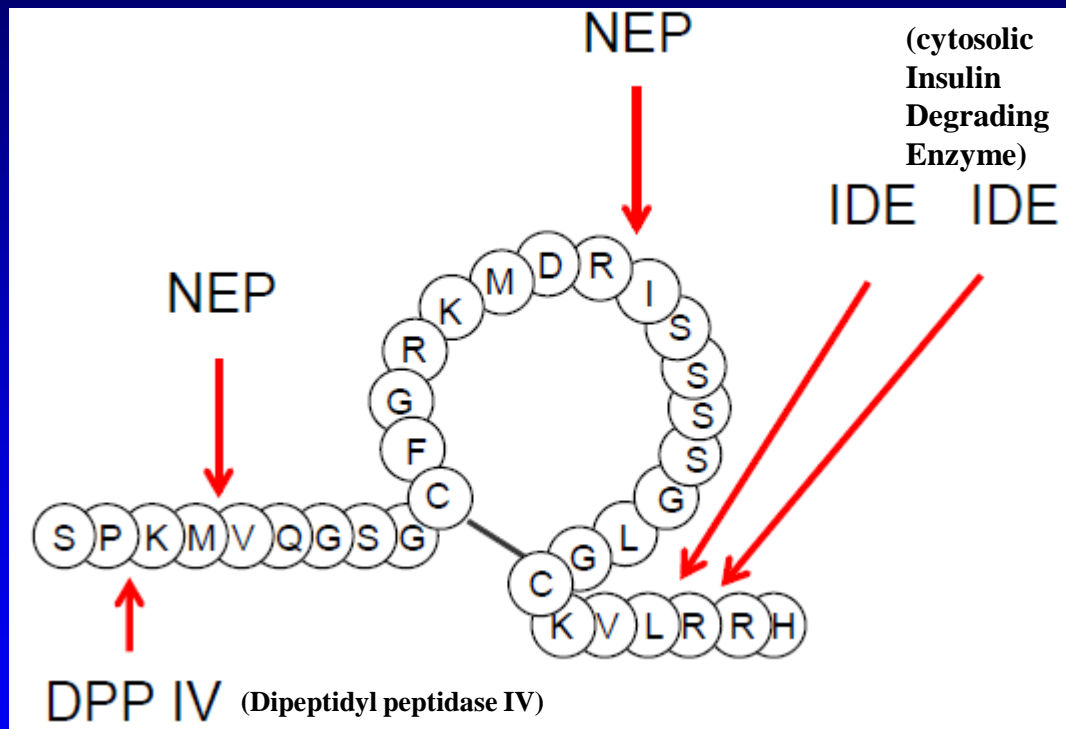
McMurray J.V. et al., N Engl J Med 2014;371:993-1004

Επίδραση Entresto



Επίδραση NEP στη δομή του BNP

Διάσπαση δακτυλίου οδηγεί σε ανενεργά πεπτίδια



+κάποια άλλη πρωτεάση? Meprin A?

Table 1. Sites of BNP cleavage by neprilysin detected by MS. (Mass spectrometry)

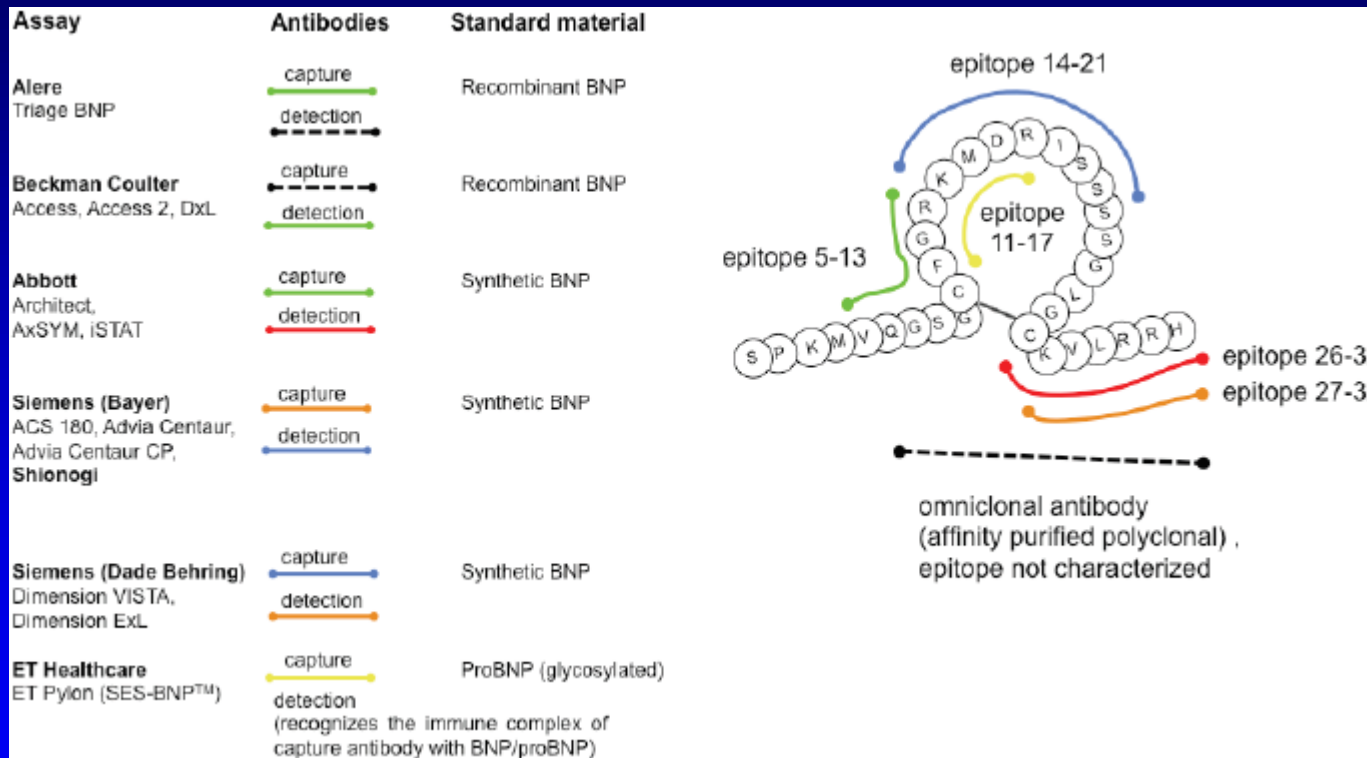
Incubation time	Bonds hydrolyzed
0.5 h	Met ₄ -Val ₅
2 h	Met ₄ -Val ₅ , Arg ₁₇ -Ile ₁₈
4 h	Met ₄ -Val ₅ , Arg ₁₇ -Ile ₁₈ , Lys ₁₄ -Met ₁₅ , Gly ₂₃ -Leu ₂₄ , Val ₂₈ -Leu ₂₉

Η NEP δεν δρα στα NT-proBNP και proBNP

Semenov A.G and A. G. Katrukha, eJIFCC 2016;27:189-207

Semenov A.G and A. G. Katrukha, Clin Chem 2016;62:617-22

Επίδραση Entresto στις μετρήσεις BNP



Semenov A.G. and A.G. Katrukha, eJIFCC 2016;27:189-207

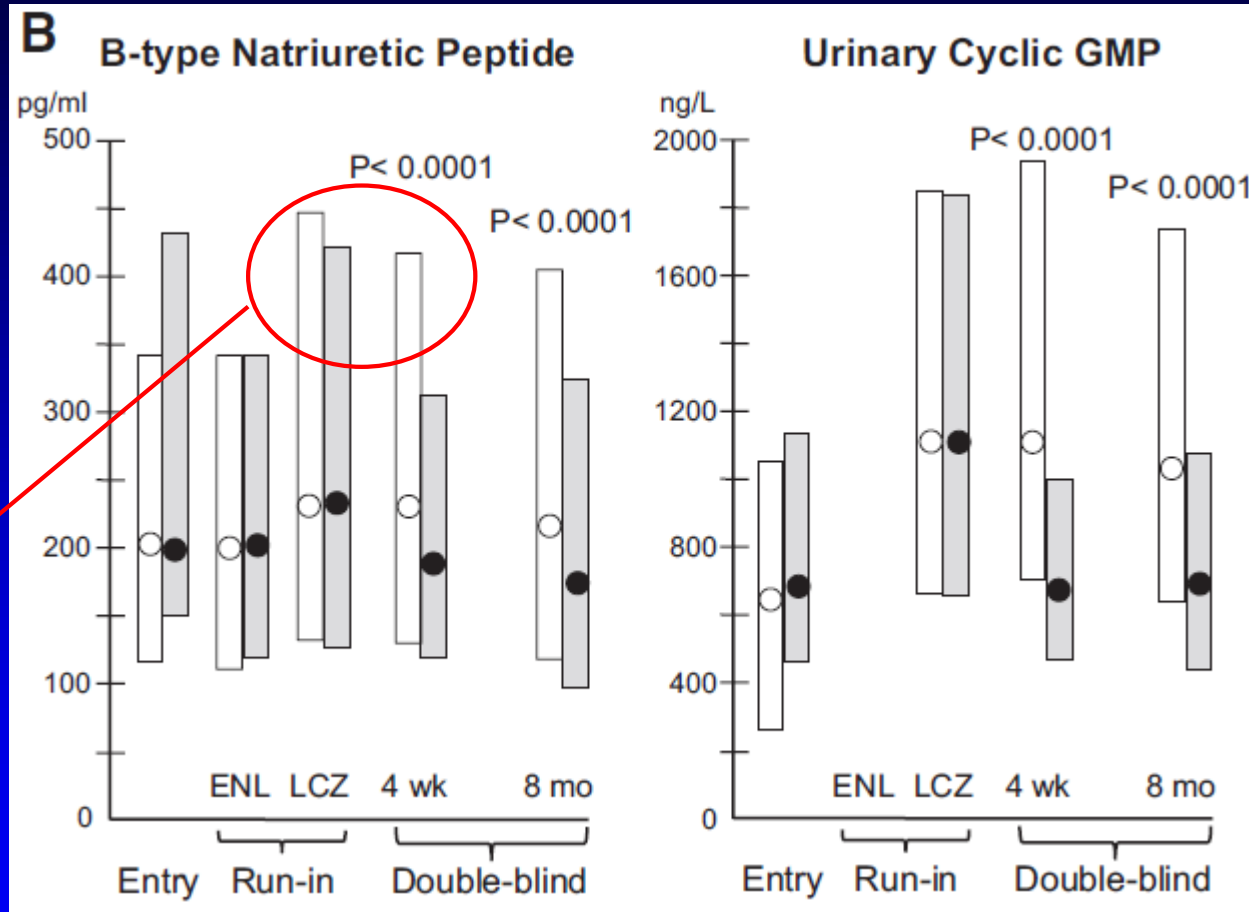
Επίδραση Entresto στις μετρήσεις BNP και cGMP

8399 HF patients class II to IV, EF<40%, BNP>150 or NT-proBNP>150

PARADIGM-HF study

Entresto treat:
white circles
and bars

Risk for
rule-in?
Overtreat?



ANP
as
well

ADVIA Centaur Siemens

R&D ELISA

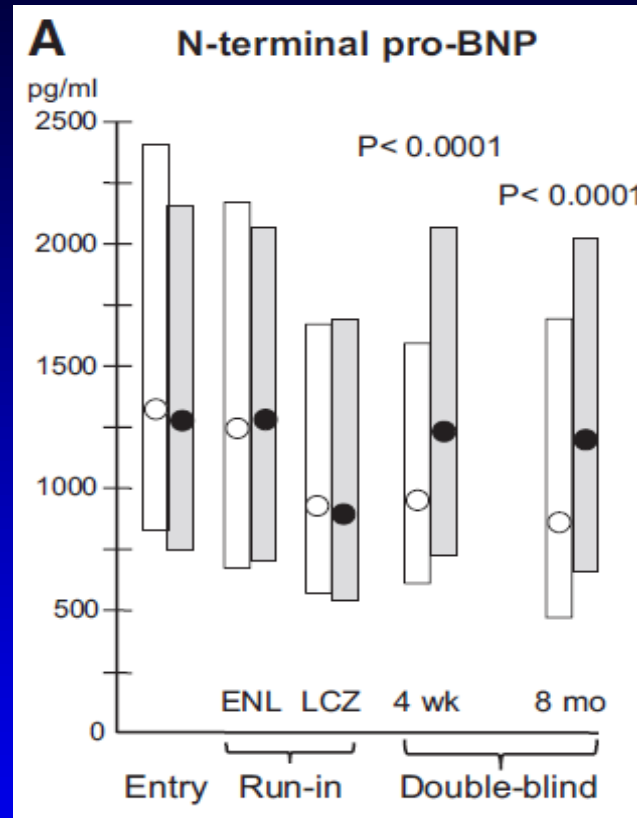
Packer M. et al., Circulation 2016;114:54-61

Αύξηση σε plasma cGMP: *Gu J. et al., J Clin Pharmacol 2010;50:401-14*

Entresto επίδραση στα επίπεδα NT-proBNP

PARADIGM-HF
study

Entresto treat:
white circles
and bars



“because BNP (but not NTproBNP) is a substrate for neprilysin, levels of BNP will reflect the action of the drug or “**patient compliance**”, whereas levels of NT-proBNP will reflect the effects of the drug on the heart”

Packer M. et al., Circulation 2016;114:54-61

Lippi G and F. Sanchis-Gomar, Int. Journal of Cardiol 2016;219:111-4

Jaffe A.S. et al., Clinical Chemistry 2015;61:1016-8