

Νατριουρητικά πεπτιδία: νέοι καρδιακοί δείκτες; Εξελίξεις στην εργαστηριακή διάγνωση καρδιακής ανεπάρκειας

Χρήστος Κρούπης

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι καρδιονατριουρητικές πεπτιδικές ορμόνες (**CNH, Cardiac Natriuretic Hormones**) απασχολούν ολοένα και περισσότερο πλέον την διεθνή βιβλιογραφία και αποζητούν τη θέση τους ως πολλά υποσχόμενοι καρδιακοί δείκτες με διαγνωστική, προγνωστική και θεραπευτική αξία. Πρόκειται για μια οικογένεια πεπτιδίων που εκκρίνονται ως επί το πλείστον από τα καρδιομυοκύτταρα με ισχυρή διουρητική, νατριουρητική και χαλαρωτική επί των λείων μυϊκών ινών δράση καθώς και με έντονη αλληλεπίδραση με το νευροορμονικό σύστημα στον άνθρωπο.

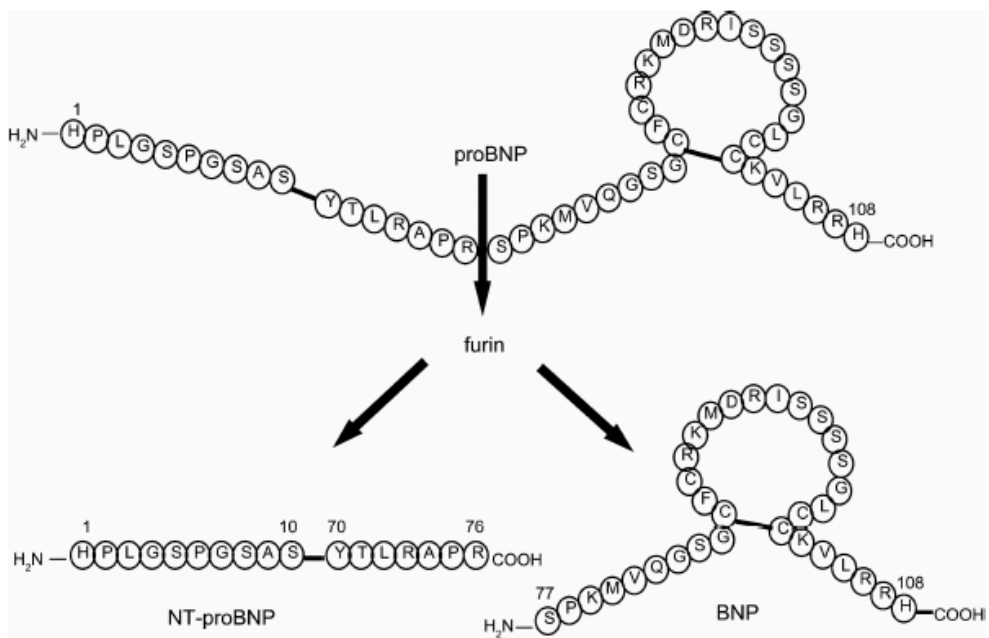
Η υποψία ότι η καρδιά αποτελούσε παράλληλα και ενδοκρινές όργανο υπήρχε εδώ και 50 έτη καθώς παρατηρήθηκαν στο μικροσκόπιο εκκριτικά κοκκία σε κύτταρα του καρδιακού κόλπου. Η απόδειξη ήρθε το 1981 όταν ο de Bold παρατήρησε αυξημένη διούρηση και νατριούρηση μετά από ενδοφλέβια χορήγηση ομογενοποιημένου καρδιακού κολπικού ιστού σε αρουραίους¹. Η παραπάνω δράση οφείλετο στο **ANP (Atrial Natriuretic Peptide)**. Το 1988 ο Sudoh απεμόνωσε το δεύτερο πεπτιδίο, το **BNP**, αρχικά από εγκέφαλο χοίρου (**Brain ή B-type Natriuretic Peptide**) ωστόσο βρέθηκε τελικά ότι εκκρίνεται στο περιφερικό αίμα κυρίως μέσω των καρδιακών κοιλιών². Την οικογένεια των νατριουρητικών πεπτιδίων συμπληρώνουν το **CNP**, το **DNP**, η **Ουροδιλατίνη (Urodilatin)** καθώς και τα προϊόντα αποικοδόμησης όλων των παραπάνω.

2. ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΚΑΙ ΠΕΠΤΙΔΙΚΗ ΔΟΜΗ CNH's

Το γονίδιο για το ανθρώπινο ANP εντοπίστηκε στο χρωμόσωμα 1, στην περιοχή p36.1 και στη συνέχεια κλωνοποιήθηκε το 1984³ ενώ σε πολύ κοντινή θέση στο ίδιο χρωμόσωμα βρέθηκε και το γονίδιο για το ανθρώπινο BNP⁴. Τα δύο γονίδια έχουν παρόμοια δομή με τρία εξόνια και δύο ιντρόνια, η διαφορά τους όμως βρίσκεται στη γονιδιακή ρύθμιση της έκφρασής τους: το BNP με την παρουσία δύο αλληλουχιών TATTTAT στον υποκινητή του γονιδίου επάγεται ταχέως ενώ στο 3' μη μεταφραζόμενο άκρο η παρουσία τεσσάρων επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών AUUUA προσφέρει σταθερότητα στο επαγόμενο mRNA. Έτσι η συγκέντρωση του BNP αυξάνεται τάχιστα ανταποκρινόμενο σε κατάλληλο ερέθισμα.

Τα νατριουρητικά πεπτιδία παράγονται αρχικά ως προπροορμόνες (pre-pro-hormone) που μετά την αποκόλληση της ακολουθίας σηματοδότησης (signal sequence) γίνονται προορμόνες και οι οποίες στη συνέχεια αποικοδομούνται μέσω ενός πρωτολυτικού ενζύμου σε δύο πεπτιδία: στο αμινοτελικό ανενεργό άκρο και στο μικρότερο καρβοξυτελικό άκρο που αποτελεί και τη βιολογικά ενεργή ορμόνη. Στο **σχήμα 1** απεικονίζεται η παραπάνω διαδικασία για το BNP.

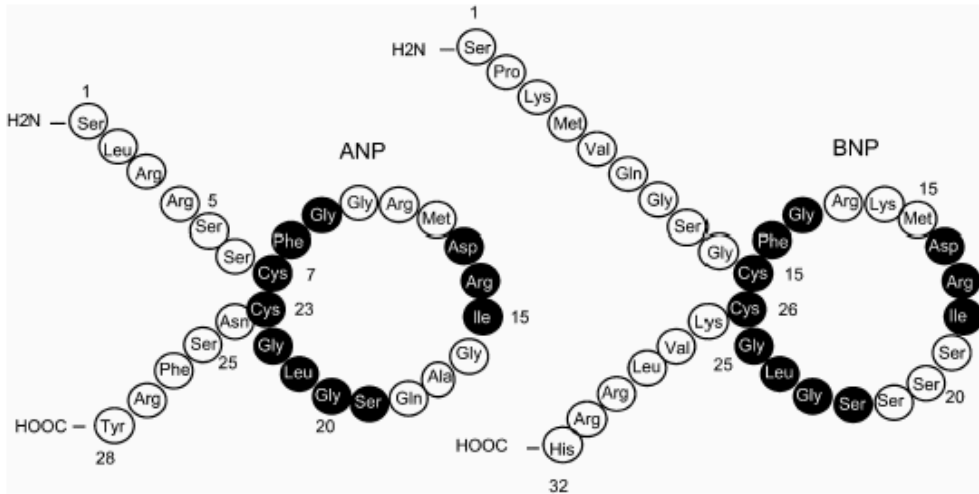
Τα βιολογικά ενεργά πεπτιδία είναι παρόμοια στην πεπτιδική τους δομή με πλέον χαρακτηριστικό τους γνώρισμα την ύπαρξη ενός δακτύλιου 17 αμινοξέων με ενδομοριακή δισουλφιδική γέφυρα μεταξύ δύο κυστεϊνών όπως φαίνεται στο **σχήμα 2**. Η ομολογία μεταξύ των αμινοξέων στον δακτύλιο είναι πολύ μεγάλη (11 ταυτόσημα αμινοξέα). Στον **πίνακα 1** καταγράφονται τα χαρακτηριστικά των πεπτιδίων ANP, BNP και CNP. Σε αντίθεση με τα ANP, BNP το CNP δεν παράγεται στα καρδιομυοκύτταρα αλλά στο αγγειακό ενδοθήλιο. Για τον ρόλο του DNP όπως και της ουροδιλατίνης (ενός αναλόγου του ANP πεπτιδίου που παράγεται στα νεφρά και ανευρίσκεται μόνο στα ούρα) δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα έως τώρα.



Σχήμα 1. Από το preproBNP (134 αμινοξέα) αποκόπτεται η σηματοδοτική ακολουθία (26 αμινοξέα) και προκύπτει το proBNP (108 αμινοξέα, M.B.=12 KDa) το οποίο διασπάται μέσω φουρίνης στο ανενεργό NT-proBNP (76 αμινοξέα, 8 KDa) και το ενεργό BNP (32 αμινοξέα, 4 KDa) [από^{5]}.

3. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ CNH ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΣΗ (CLEARANCE)

Τρεις υποδοχείς των νατριουρητικών πεπτιδίων έχουν απομονωθεί: **NPR-A, NPR-B**

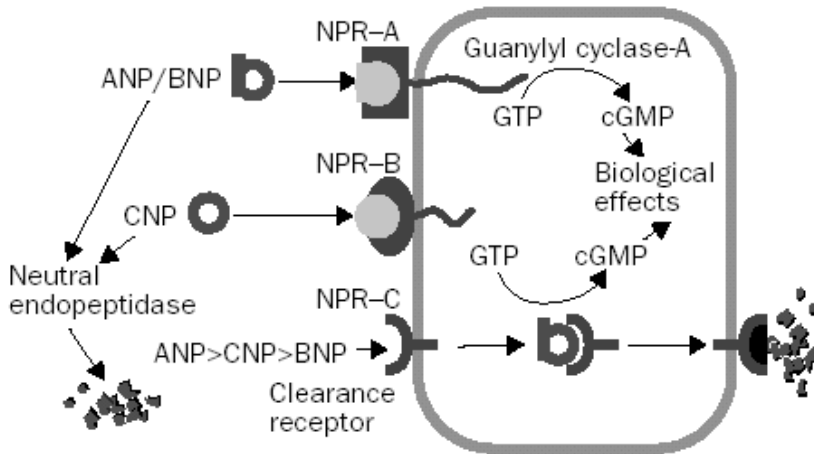


Σχήμα 2. Πεπτιδική δομή ANP και BNP [από 5].

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά πεπτιδίων ANP, BNP και CNP [τροποποιημένα από6].

	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
Κνockout φαινότυπος	Υπέρταση	Μυοκαρδιακή ίνωση	Νανισμός
Ενδοκυττάρια στόρευση	NAI	OXI	OXI
Επαγωγή	OXI	NAI	OXI

και **NPR-C (Natriuretic Peptide Receptor)**. Η δέσμευση των νατριουρητικών πεπτιδίων στους A και B υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων-στόχων οδηγεί στη βιολογική τους δράση καθώς παράγεται ως “δεύτερο μήνυμα” το cGMP μέσω μηχανισμού γουανυλικής κυκλάσης (σχήμα 3). Εν αντιθέσει με τους άλλους δύο υποδοχείς ο NPR-C δεν έχει δράση γουανυλικής κυκλάσης και ενδοκυττώνει τον εκάστοτε προσδέτη στα λυσοσώματα όπου και το πεπτίδιο αποικοδομείται ενώ ο υποδοχέας επιστρέφει στην κυτταρική μεμβράνη, δρα λοιπόν ως μηχανισμός “κάθαρσης” (Clearance receptor). Είναι δε ο



Σχήμα 3. Υποδοχείς νατριουρητικών πεπτιδίων και κάθαρση [από 7].

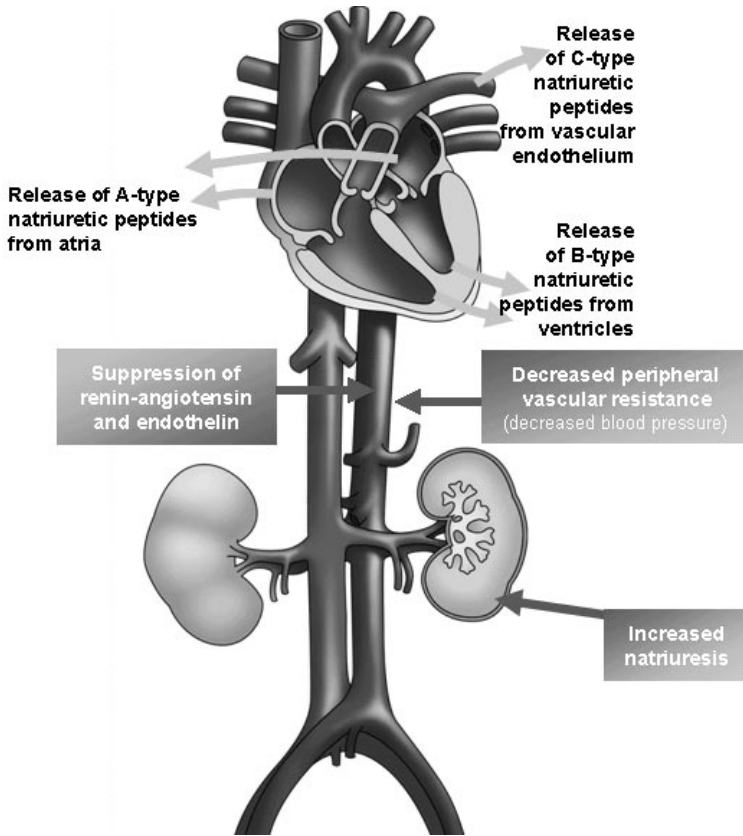
πιο διαδεδομένος από τους παραπάνω υποδοχείς σε πληθώρα ιστών όπως καρδιά, ενδοθήλιο και νεφρά και προσδένει σύμφωνα με την εξής σειρά: ANP>CNP>BNP. Η χαμηλή συγγένεια του NPR-C για το BNP εξηγεί μερικώς τον μακρύτερο χρόνο ημιζωής του BNP σε σχέση με το ANP⁶.

Ένας άλλος μηχανισμός κάθαρσης είναι μέσω της ουδέτερης ενδοπεπτιδάσης (**NEP, Neutral Endopeptidase**), μιας μεταλλοπεπτιδάσης ψευδαργύρου η οποία και απενεργοποιεί τη δράση των ενεργών καρβοξυτελικών πεπτιδίων διασπώντας τον δακτύλιο τους. Στις περιπτώσεις παθολογικών υψηλών συγκεντρώσεων νατριουρητικών πεπτιδίων αποτελεί τον κύριο μηχανισμό κάθαρσής τους λόγω της συνεχούς “κατάληψης” του NPR-C από τα πεπτιδία.

4. ΔΡΑΣΗ ΝΑΤΡΙΟΥΡΗΤΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Οι φυσιολογικές δράσεις της έκκρισης των ANP και BNP από τον κόλπο και τις κοιλίες της καρδιάς καθώς και του CNP από το αγγειακό ενδοθήλιο είναι οι ακόλουθες⁷⁻⁹ ενώ οι σημαντικότερες παρουσιάζονται παραστατικά στο **σχήμα 4**:

- A) Στο αγγειακό σύστημα αγγειοδιαστολή και μείωση της αρτηριακής πίεσης μέσω της χαλαρωτικής τους δράσης στα λεία μυϊκά κύτταρα του ενδοθηλίου και αναστολής της ανάπτυξής τους (anti-proliferative action).
- B) Στα νεφρά αγγειοδιαστολή του προσαγωγού αρτηριδίου του σπειράματος με αποτέλεσμα αυξημένη ταχύτητα σπειραματικής διήθησης (GFR) και συνεπώς αυξημένη διούρηση καθώς και μείωση της επαναρόφησης του νατρίου στο συλλεκτικό αγωγό, με αποτέλεσμα νατριούρηση.
- Γ) Στον καρδιακό μυ, αναστολή της κοιλιακής υπερτροφίας και της αναδιαμόρφωσης (remodeling) του καρδιακού ιστού μέσω της αναστολής του πολλαπλασιασμού των καρδιομυοκυττάρων και της αναστολής της σύνθεσης κολλαγόνου στους ινοβλάστες της καρδιάς¹⁰.



Σχήμα 4. Φυσιολογική δράση πεπτιδίων ANP, BNP και CNP [από¹¹].

- Δ) Στο συμπαθητικό νευρικό σύστημα, καταστολή της δραστηριότητάς του και καταστολή του άξονα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης (RAAS) καθώς και του μηχανισμού παραγωγής ενδοθηλινών.
- Ε) Στη ρύθμιση της πήξης και αιμόστασης με την αναστολή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων.

Τα καρδιονατριουρητικά πεπτιδία αυξάνονται σε παθολογικές καταστάσεις όπου κυριαρχεί η αύξηση του όγκου των υγρών όπως στη καρδιακή και νεφρική ανεπάρκεια καθώς και στη κίρρωση του ήπατος με ασκίτη. Στον **πίνακα 2** καταγράφεται η επίδραση διαφόρων παθοφυσιολογικών καταστάσεων στις τιμές των καρδιονατριουρητικών πεπτιδίων ANP και BNP. Στην καρδιακή ανεπάρκεια το ANP εκκρίνεται από τα αποθηκευτικά κοκκία με την αύξηση της διατοίχωματικής τάσης των δύο κόλπων ενώ το BNP επάγεται γρήγορα τόσο από την αύξηση της πίεσης στα τοιχώματα των δύο κοιλιών όσο και από την υπερφόρτωση όγκου. Στα καρδιαγγειακά νοσήματα οι μεγάλες αυξήσεις των πεπτιδίων αυτών προσπαθούν να αντισταθίσουν την ενεργοποίηση του νευροορμονικού συστήματος όπου έχουμε αγγειοσυστολή και κατακράτηση νατρίου και

Πίνακας 2. Επίδραση νοσημάτων στις τιμές των CNH [διασκευασμένη από^{8,9]}.

Τιμές καρδιονατριουρητικών πεπτιδίων στο αίμα σε νοσήματα και κλινικά σύνδρομα	
Νόσοι	Συγκεντώσεις CNH πεπτιδίων
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	↑ ↑

κατά συνέπεια μπορούν να θεωρηθούν ως ένας προσαρμοστικός και προστατευτικός μηχανισμός για την καρδιά και τα νεφρά.

Στο φυσιολογικό πληθυσμό οι τιμές των νατριουρητικών πεπτιδίων βαίνουν αυξανόμενες με την ηλικία, αντανακλώντας πιθανότατα την φυσιολογική έκπτωση της νεφρικής και καρδιακής λειτουργίας. Στις γυναίκες οι τιμές επίσης είναι μεγαλύτερες πιθανότατα λόγω της επίδρασης των στεροειδών ορμονών του φύλου.

5. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ BNP

Οι εργαστηριακές μετρήσεις των νατριουρητικών πεπτιδίων δεν έχουν ακόμη εισαχθεί στην καθημερινή ρουτίνα των περισσότερων εργαστηρίων Κλινικής Χημείας παγκοσμίως. Οι λόγοι είναι ότι πρωτευνόντως ακόμη βρίσκονται σε ερευνητικό επίπεδο οι συσχετισμοί των μετρήσεων αυτών με κλινικές ενδείξεις (θα αναφερθούν αναλυτικά στο επόμενο τμήμα 6) και δευτερευόντως ότι δεν υπάρχουν πρότυπα υλικά ώστε οι υπάρχουσες μεθοδολογίες να προτυποποιηθούν. Έτσι οι μετρήσεις που κυριαρχούν και είναι οι εξής: ANP, NT-proANP, BNP και NT-proBNP δεν μπορούν να συγκριθούν εύκολα από εργαστήριο σε εργαστήριο ούτε υπάρχει συμφωνία στο ποιο από αυτά τα μόρια θα επιλεγεί τελικά και για ποια παθολογική κατάσταση. Διαφορετικές μεθοδολογίες δίνουν διαφορετικά αποτελέσματα και αυτό υποβαθμίζει την διαγνωστική ακρίβεια των κλινικών συσχετίσεων αλλά και εμποδίζει την δημιουργία μέτα-αναλύσεων. Για λόγους ευκολίας και αποφυγής συγχύσεων και επειδή φαίνεται ότι επικρατούν διεθνώς, θα αναφερθούν διεξοδικά μόνο το BNP και το NT-proBNP. Και για τα δύο αυτά μόρια κυκλοφορούν πλέον πολλά εμπορικά διαθέσιμα διαγνωστικά σετ αντιδραστηρίων (kits).

Πλεονεκτήματα/μειονεκτήματα μετρήσεων BNP και NT-proBNP

Στον φυσιολογικό πληθυσμό ο λόγος BNP/NT-proBNP στο περιφερικό αίμα είναι 1, ωστόσο σε παθολογικές καταστάσεις όπου αυξάνεται η έκκριση του BNP ο λόγος μειώνεται καθώς λόγω του μεγαλύτερου χρόνου ημιζωής του NT-proBNP (120 min σε σχέση με 22 min του ενεργού BNP) σιγά-σιγά αθροίζεται περισσότερο NT-proBNP (2-10 φορές περισσότερο NT-proBNP από BNP). Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις NT-proBNP διευκολύνουν την ανίχνευσή τους στις διάφορες ανοσοδοκιμασίες όπως επίσης μικρές αλλαγές στην κλινική εικόνα καθίστανται ευκολότερα αντιληπτές εργαστηριακά και έτσι υποβοηθείται σημαντικά η διαφοροδιάγνωση. Το μόριο NT-proBNP είναι αρκετά μεγαλύτερο με αποτέλεσμα την ευκολότερη δημιουργία εργαστηριακών δοκιμασιών τύπου “sandwich” με τη χρήση αντισωμάτων έναντι δύο επιτόπων ωστόσο οι πολλοί επίτοποι δημιουργούν τη μεγάλη διαφορά μεταξύ των διαφόρων μεθόδων και την ανάγκη πολλών διαφορετικών βαθμονομητών για τη δημιουργία καμπύλης αναφοράς. Το μόριο NT-proBNP είναι πιο σταθερό στα διάφορα βιολογικά υγρά (ορό ή EDTA πλάσμα) και συντηρείται επί μακρόν και στους 4° C. Η απέκκρισή του γίνεται νεφρικά, επομένως επηρεάζεται από τη νεφρική λειτουργία και κατά συνέπεια η αξιοπιστία του ελέγχεται στους αρκετά ηλικιωμένους ανθρώπους όπου υπάρχει έκπτωση νεφρικής λειτουργίας (το πρόβλημα λύνεται μερικώς με αύξηση των ανώτατων φυσιολογικών τιμών).

Συμπερασματικά θα μπορούσε να ειπωθεί ότι το μόριο NT-proBNP αποτελεί καλλίτερο δείκτη του επιπέδου της καρδιακής λειτουργίας ή ακριβέστερα της καρδιονεφρικής λειτουργίας. Το μόριο BNP όμως δείχνει καλλίτερα την ενεργοποίηση του νευροορμονικού ανθρώπινου συστήματος και συσχετίζεται καλλίτερα με τη κλινική εικόνα μετά από έντονες αιμοδυναμικές αλλαγές. Τέλος στη περίπτωση που γίνεται θεραπεία με ανασυνδυσασμένο BNP (βλέπε τμήμα 7) καλόν είναι είτε να χρησιμοποιείται η μέτρηση του NT-proBNP καθώς το ανασυνδυσασμένο BNP παρεμποδίζει τη πραγματική τιμή της μέτρησης BNP είτε να γίνεται μέτρηση BNP τουλάχιστον μετά από δύο ώρες από τη λήψη του φαρμάκου^{8,12}.

Μεθοδολογίες μέτρησης BNP

Η πρώτη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για το ενεργό πεπτιδίο BNP ήταν η RIA (Shionoria, Shionoghi & Co., Osaka, Ιαπωνία). Στη συνέχεια το ίδιο ή παραπλήσιο με το αντίσωμα που χρησιμοποιήθηκε στη πρώτη αυτή μέθοδο χρησιμοποιήθηκε σε πιο αυτοματοποιημένα συστήματα είτε παρά την κλίνη του ασθενούς (POCT) με άμεσο ανοσοφθορισμομετρική μέθοδο ILMA (Triage BNP test, Biosite Diagnostics, San Diego, ΗΠΑ) είτε σε αναλυτές όπως ο AxSYM της Abbott Diagnostics ή ο ADVIA Centaur της Bayer Diagnostics. Το ανώτατο όριο φυσιολογικών τιμών που έχει επικρατήσει στις παραπάνω μεθοδολογίες είναι 100 pg/mL (ή ng/L).

Μεθοδολογίες μέτρησης NT-proBNP

Η πρώτη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για το NT-proBNP ήταν η συναγωνιστική EIA (Biomedica Gruppe, Vienna, Αυστρία) η οποία χρησιμοποιεί ένα πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι του επιτόπου 8-29 του NT-proBNP. Επειδή χρησιμοποιεί μικρο-

πλακίδια τύπου ELISA είναι χρήσιμη κυρίως για ερευνητικά πρωτόκολλα σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων καθώς διαρκεί αρκετές ώρες. Οι φυσιολογικές τιμές στη μέθοδο αυτή είναι $< 250 \text{ fmol/mL}$ (600 pg/mL). Εξέλιξη αποτέλεσε η χρήση δύο πολυκλωνικών αντισωμάτων από τη Roche αρχικά σε μη συναγωνιστική μέθοδο ELISA (τύπου sandwich) και στη συνέχεια με χημειοφωταυγή ανίχνευση ECLIA στον αναλυτή Elys-sys. Η Dade Behring τελευταία ανέπτυξε χρωματομετρική μέθοδο στον αναλυτή Dimension χρησιμοποιώντας τα ίδια αντισώματα της Roche [το δεύτερο όμως σε μορφή $F(ab')_2$]. Στις δύο αυτές τελευταίες μεθόδους το ανώτατο φυσιολογικό όριο έχει ορισθεί 125 pg/mL (ή ng/L) για ηλικίες κάτω των 75 ετών ενώ για μεγαλύτερες ηλικίες το όριο ανεβαίνει στα 450 pg/mL (ή ng/L) λόγω της έκπτωσης της νεφρικής λειτουργίας. Οι παραπάνω φυσιολογικές τιμές διαφέρουν σημαντικά από τις αντίστοιχες στη μέθοδο της Biomedica λόγω διαφορετικών βαθμονομητών. Σε σύγκριση μελέτη μεταξύ των μεθόδων της Biomedica και της Roche στα εργαστήρια του Ωνασείου (Ανοσολογικό και Κεντρικό) παρατηρήθηκε συσχετισμός με συντελεστή $r=0,84$ ο οποίος δεν είναι ιδανικός από αναλυτικής απόψεως ωστόσο ικανοποιητικός για κλινική αξιολόγηση.

Γενικές παρατηρήσεις πάνω στις μετρήσεις

Σημαντικό είναι το κάθε εργαστήριο να αξιολογήσει την επιλεγόμενη μεθοδολογία ή μόριο με βάση την αξιοπιστία στην απάντηση του κλινικού προβλήματος που καλείται να αντιμετωπίσει. Ήδη υπάρχουν αρκετές συγκριτικές μελέτες στη βιβλιογραφία¹³⁻¹⁶. Ήδη επίσης αναφέρονται σοβαρά προβλήματα που ανακύπτουν στην ανάλυση και των δύο μορίων. Για μεν το BNP έχει αναφερθεί ότι ενδογενής στον άνθρωπο διπεπτιδάση αφαιρεί τη σερίνη και προλίνη από το αμινοτελικό άκρο παρεμποδίζοντας έτσι την προσκόλληση του αντισώματος για τη μέτρησή του, για δε το NT-proBNP ότι στο περιφερικό αίμα κυκλοφορεί επίσης και άκοπο proBNP, ένα τριμερές proBNP καθώς και διάφορα προϊόντα αποικοδόμησής του¹⁷. Επειδή όλα τα παραπάνω συνεισφέρουν με διαφορετικό τρόπο σε κάθε μέθοδο έχει προταθεί να προηγείται κατεργασία του δείγματος με θρυψίνη ώστε να σχηματίζεται ένα και μόνο τελικό προϊόν αποικοδόμησης (αμινοξέα 1-21 του NT-proBNP) το οποίο και να προσδιορίζεται ποσοτικά¹⁸.

6. ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΞΙΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ BNP

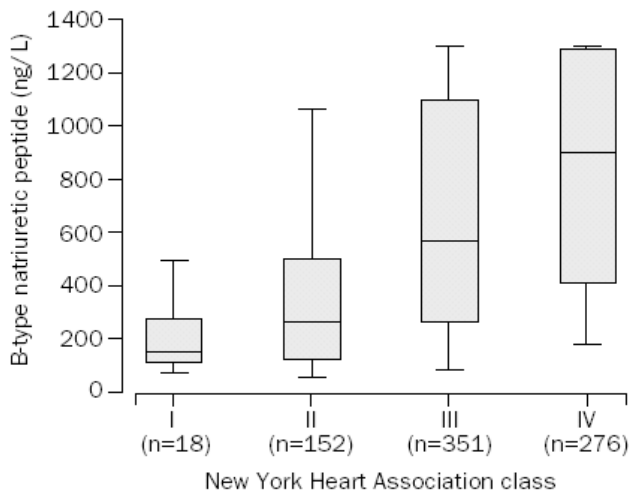
Τα κριτήρια τα οποία πρέπει να πληρεί ένα νέο μόριο όπως το BNP ώστε να μπορεί να οριστεί ως **καρδιακός δείκτης** είναι πολλά: να είναι καλά χαρακτηρισμένο, εύκολο και οικονομικό στη μέτρησή του με ακρίβεια και επαναληψιμότητα, σταθερό κατά την αποθήκευση των δειγμάτων, απολύτως ειδικό για την καρδιά καθώς και να μην ανιχνεύεται στο περιφερικό αίμα υγιούς πληθυσμού και τέλος ο κλινική του αξία να είναι δεδομένη. Για το τελευταίο κριτήριο, πληθώρα κλινικών μελετών έχουν αρχίσει να καταδεικνύουν με στοιχεία την αξία του BNP σε τρεις χρήσεις που θα περιγραφούν στη συνέχεια: διαγνωστική χρήση, προγνωστική χρήση καθώς και στην επιλογή και παρακολούθηση θεραπείας (evidence-based Medicine). Πιστεύεται ότι όταν θα εκπληρωθούν πλήρως και τα υπόλοιπα κριτήρια το BNP θα περάσει από την ερευνητική διερεύνηση στην καθημερινή ρουτίνα ενός κλινικού εργαστηρίου.

6.1. Διαγνωστική Χρήση

Διάγνωση και ταξινόμηση καρδιακής ανεπάρκειας

Η καρδιακή ανεπάρκεια είναι ένα νόσημα που πλήττει ολοένα και περισσότερους ανθρώπους συνήθως στις μεγάλες ηλικίες ειδικά στις ανεπτυγμένες χώρες όπου η ιατρική πρόληψη και μέριμνα έχει σημαντικά βελτιώσει τον μέσο όρο ζωής (διάδοση νοσήματος 0,4-2%). Είναι σημαντική η έγκαιρη διάγνωσή της, η ταξινόμησή της κατά τα κριτήρια της NYHA (New York Heart Association) σε κάποια από τις λειτουργικές κατηγορίες I-IV καθώς και η έναρξη άμεσης και επιθετικής φαρμακευτικής αγωγής. Ο ορισμός της είναι πολύ ευρύς και η ακριβής διάγνωση δύσκολη καθώς τα συνήθη συμπτώματα (δύσπνοια, κόπωση και οίδημα στα άκρα) δεν είναι ειδικά για το νόσημα. Συνήθως σε <40% των ασθενών που παρουσιάζονται με αυτά τα συμπτώματα σε τακτική ιατρική επίσκεψη επιβεβαιώνεται τελικά η διάγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας, ενώ το υπόλοιπο 60% υποβάλλεται σε περιττές χρονοβόρες, ιδιαίτερα ακριβές και απαιτητικές εξετάσεις. Επίσης ένα μεγάλο ποσοστό ασυμπτωματικών ασθενών διαφεύγει της απαραίτητης ιατρικής αντιμετώπισης (συνήθως στις κατηγορίες I και II που αποτελούν το 70% των ασθενών). Σε όλες τις ανωτέρω περιπτώσεις τα νατριουρητικά πεπτιδία -και πιο συγκεκριμένα το BNP ή το NT-proBNP- μπορούν να συνεισφέρουν σημαντικά στην ακριβή **διάγνωση, επιβεβαίωση και ταξινόμηση της καρδιακής ανεπάρκειας** ως ένα γρήγορο βιοχημικό τεστ είτε μονήρες είτε σε συνδυασμό με μια απεικονιστική μέθοδο όπως η ηχωκαρδιογραφία Triplex (ή η μαγνητική τομογραφία MRI) και με κύριο κριτήριο τη παράμετρο LVEF (left ventricular ejection fraction) [σημειώνεται ότι υπάρχουν και ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια αλλά φυσιολογικό LVEF].

Στο **σχήμα 5** απεικονίζεται ο συσχετισμός των επιπέδων BNP σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια με την λειτουργική κατάταξή τους στις κατηγορίες NYHA. Υπάρχει δε στενή συσχέτιση του BNP και με το LVEF αλλά και με άλλους σημαντικούς



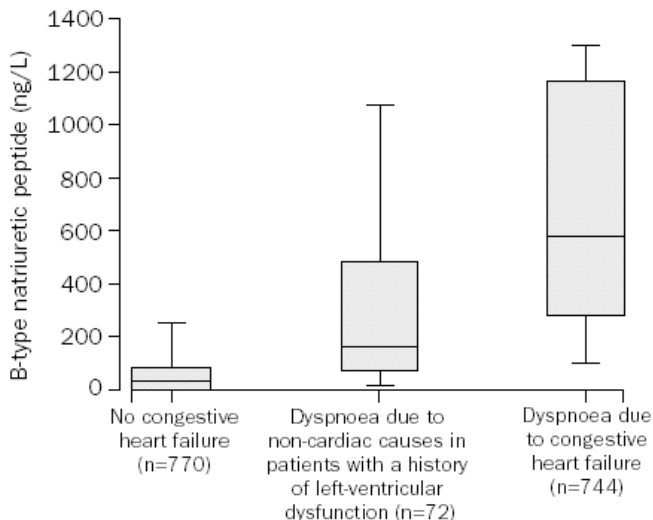
Σχήμα 5. Επίπεδα BNP στις κατηγορίες NYHA I έως IV [από¹⁹].

αιμοδυναμικούς δείκτες όπως ο LVEDP (left ventricular end diastolic pressure).

Πέραν της επιβεβαίωσης της καρδιακής ανεπάρκειας, η μέτρηση του BNP αξιολογείται ερευνητικά εάν θα ήταν απαραίτητη και ως δοκιμασία ελέγχου (screening) στον γενικό πληθυσμό ωστόσο πιο κλινικά επιβεβαιωμένη είναι η χρησιμότητά της για:

- α) τον έλεγχο πληθυσμών υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας όπως π.χ. στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία ή στους καρκινοπαθείς λόγω της καρδιοτοξικότητας ορισμένων χημειοθεραπευτικών σχημάτων ή σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια ή σε ασθενείς που έχουν υποστεί έμφραγμα ή στους ηλικιωμένους και
- β) για τους ασθενείς που προσέρχονται στο ΤΕΠ (Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών) ενός νοσοκομείου με οξεία δύσπνοια όπου τίθεται έντονο διαγνωστικό πρόβλημα ως προς την προέλευση του αιτίου της δύσπνοιας: καρδιακού ή αναπνευστικού ή άλλου αιτίου. Στο **σχήμα 6** δίδονται παραστατικά τα αποτελέσματα από κλινική μελέτη σε ασθενείς που προσήλθαν στα ΤΕΠ με δύσπνοια και στους οποίους παράλληλα με την κλινική εκτίμηση, καρδιογράφημα και ακτινογραφία θώρακος έγινε και προσδιορισμός του BNP.

Μέτρηση του BNP >100 ng/L αυξάνει το ποσοστό διάγνωσης των περιπτώσεων καρδιακής αιτιολογίας στο 81% από 74% όπου χρησιμοποιείται μόνο η κλινική εκτίμηση²⁰. Όταν δε η συγκέντρωση του BNP είναι >500 ng/L τότε η διάγνωση κλίνει προς τη μεριά της καρδιακής ανεπάρκειας και της άμεσης χορήγησης σχετικής θεραπείας^{21,22}. Πρέπει να σημειωθεί ότι στις εφημερίες των ΤΕΠ των νοσοκομείων καθώς και στα πρωτοβάθμια Κέντρα Υγείας συνήθως δεν υπάρχει διαθέσιμη ηχωκαρδιογραφία και έμπειρος καρδιολόγος με την αντίστοιχη εξειδίκευση. Πολύ σημαντική είναι επίσης η υψηλή αρνητική προβλεπτική αξία της μέτρησης BNP στον αποκλεισμό της καρδιακής ανεπάρκειας σε δύσπνοια που φθάνει το 96% για συγκεντρώσεις BNP <50 ng/L¹⁹. Σε αυτή τη περίπτωση πλειοψηφούν τα αναπνευστικά αίτια όπως η χρόνια αποφρακτική

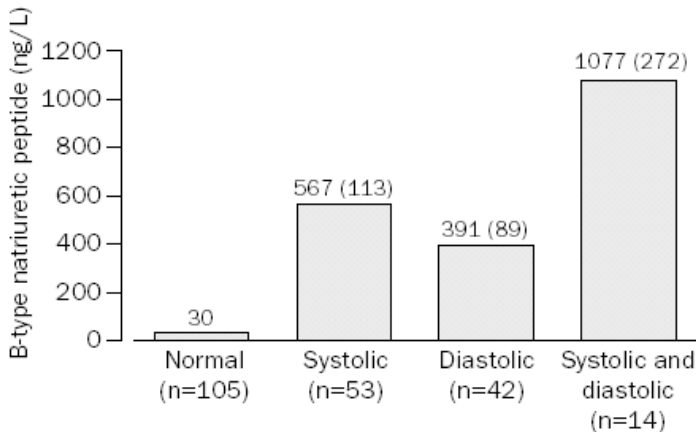


Σχήμα 6. Συγκεντρώσεις του BNP σε ασθενείς των ΤΕΠ με δύσπνοια [από¹⁹].

πνευμονοπάθεια (COPD) με συνήθως φυσιολογικές ή λίγο αυξημένες τιμές BNP²¹. Ως προς τη διάγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας η περιοχή AUC (Area Under the Curve) στη ROC καμπύλη αγγίζει το 0,91 για τη δοκιμασία BNP¹⁹. Τα ανωτέρω ισχύουν και για τη μέτρηση NT-proBNP¹⁵.

Διάγνωση ασυμπτωματικής ήπιας δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας (LVD)

Η ασυμπτωματική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας είναι αρκετά συχνή και μπορεί να οδηγήσει στην αρκετά σοβαρότερη καρδιακή ανεπάρκεια. Το BNP θα μπορούσε να αποτελεί εργαστηριακή δοκιμασία ελέγχου (screening test) σε ομάδες υψηλού κινδύνου με σκοπό την ανίχνευση όσο το δυνατόν περισσότερων LVD ασθενών ώστε να τους δοθούν οι κατάλληλες οδηγίες με παραπομπή για ηχωκαρδιολογική μελέτη και επί θετικού αποτελέσματος, προληπτική θεραπευτική αγωγή με ACE αναστολείς ή β-αποκλειστές. Στο **σχήμα 7** παρατίθενται αποτελέσματα από κλινική μελέτη όπου μετρήθηκαν τα επίπεδα BNP είτε σε ασθενείς με διαγνωσμένη LVD είτε σε φυσιολογικό πληθυσμό αφού όλοι αξιολογήθηκαν ηχωκαρδιογραφικά. Είναι φανερό ότι η συστολική δυσλειτουργία γίνεται ευκολότερα αντιληπτή ενώ η ανίχνευση της διαστολικής δυσλειτουργίας αμφισβητείται²³. Πιθανολογείται ότι στις ήπιες περιπτώσεις συστολικής δυσλειτουργίας το NT-proBNP λόγω των υψηλότερων επιπέδων του είναι σε θέση να τις ανιχνεύσει πιο έγκαιρα¹⁵.



Σχήμα 7. Συγκεντρώσεις BNP και ασθενείς με συστολική ή/και διαστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας [από²⁴].

6.2. Προγνωστική χρήση

Η προγνωστική αξία της δοκιμασίας BNP είναι διαπιστωμένη σε πολλές κλινικές καταστάσεις με πιο σημαντικές την καρδιακή ανεπάρκεια και τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα.

Σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια η δοκιμασία BNP (ή NT-proBNP) είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνησιμότητα. Υψηλά επίπεδα BNP μειώνουν τη πιθανότητα επιβίωσης και μάλιστα αναλόγως της συγκέντρωσης BNP²⁵ ενώ όταν τα επίπεδα παραμένουν υψηλά ακόμη και μετά από επιθετική θεραπευτική αγωγή, τότε υπάρχει προδιάθεση για καρδιακά συμβάμματα και υποδεικνύεται ως επιτακτική ανάγκη η μεταμόσχευση καρδιάς⁷.

Ο μηχανισμός αύξησης του BNP μετά από οξεία στεφανιαία επεισόδια δεν είναι απόλυτα σαφής. Πιθανολογείται ότι η τοπική μείωση της συσταλτικότητας σε ισχαιμικό επεισόδιο αυξάνει τη τοιχωματική διάταση και επάγει την έκκριση του BNP. Ίσως η συγκέντρωση BNP να αντανakλούν την έκταση και τη σοβαρότητα του ισχαιμικού επεισοδίου. Είναι υψηλότερα μετά από εμφράγματα με ανύψωση του ST σε σχέση με τα ασταθή επεισόδια όπως την ασταθή στηθάγχη και τα εμφράγματα χωρίς ανύψωση του ST. Ωστόσο στα δύο τελευταία υπάρχει στατιστικά σημαντικότερη συσχέτιση των επιπέδων BNP με την θνησιμότητα εντός έτους και ιδιαίτερα αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης νέου εμφράγματος ή εγκατάστασης καρδιακής ανεπάρκειας^{26,27} π.χ. επίπεδα NT-proBNP >1654 ng/L προσδίδουν σχετικό κίνδυνο 26,6 στους 40 μήνες μετά από επεισόδιο χωρίς ανύψωση του ST. Πιστεύεται ότι τα επίπεδα BNP είναι **άριστος προγνωστικός δείκτης** για τη διαστρωμάτωση του κινδύνου (risk stratification) μετά από οξεία στεφανιαία επεισόδια είτε μονήρης είτε σε συνδυασμό με άλλους καρδιακούς δείκτες όπως το CRP και η τροπονίνη.

Σε πρόσφατη μελέτη έχει αποδειχθεί και η προγνωστική αξία του BNP στο γενικό πληθυσμό (εξαιρουμένων των νοσούντων με καρδιακή ή νεφρική ανεπάρκεια) όχι μόνο για καρδιαγγειακά αλλά και για εγκεφαλικά επεισόδια²⁸. Επίσης τα αυξημένα επίπεδα BNP θα μπορούσαν να προβλέψουν τη προδιάθεση για αρτηριακή υπέρταση και την πορεία της υπερτροφίας της αριστερής κοιλίας (LVH, left ventricular hypertrophy) στο γενικό πληθυσμό^{8,29}. Τέλος, τα αυξημένα επίπεδα BNP έχουν χρησιμοποιηθεί και ως προγνωστικοί δείκτες στην νεφρική ανεπάρκεια ή σε πνευμονολογικά νοσήματα συσχετιζόμενα με τη δυσλειτουργία της δεξιάς κοιλίας π.χ. την πνευμονική υπέρταση^{8,9}.

6.3. Επιλογή και παρακολούθηση θεραπείας

Όπως προαναφέρθηκε η ανίχνευση υψηλών συγκεντρώσεων BNP διευκολύνει την κλινική απόφαση για έναρξη επιθετικής θεραπευτικής αγωγής με β-αποκλειστές, αναστολείς της ACE ή του υποδοχέα της αγγειοτενσίνης, διουρητικά ή ανταγωνιστές αλδοστερόνης όπως η σπιρονολακτόνη. Η ανταπόκριση στη θεραπεία οδηγεί σε μείωση των επιπέδων BNP και περαιτέρω στην σημαντική και επιθυμητή μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων³⁰. Υπό ερευνητική διερεύνηση ευρίσκονται: α) εάν υπάρχει προβλεπτική αξία της μέτρησης BNP ως προς την ανταπόκριση σε συγκεκριμένο φάρμακο, β) εάν υπάρχει αξία στη παρακολούθηση της θεραπείας μέσω σειριακών μετρήσεων του πεπτιδίου (monitoring) και πόσο συχνά πρέπει να γίνονται αυτές οι μετρήσεις και τέλος γ) εάν μπορεί να γίνει τιτλοδότηση (titration) της δόσης του φαρμάκου ώστε να επιτευχθεί εξατομικευμένη ιατρική αντιμετώπιση.

Για το τελευταίο ερώτημα βρέθηκε σε πρόσφατη πρωτότυπη μελέτη ότι τα καρδιακά συμβάμματα μειώνονται σημαντικά στους ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια όπου επιλέχθηκε να γίνει θεραπεία με οδηγό τα επίπεδα NT-proBNP σε σχέση με τους ασθενείς

όπου η θεραπεία δίδεται με βάση την εμπειρία του κλινικού ιατρού³¹. Η τιτλοδότηση των φαρμάκων έγινε ώστε τα επίπεδα NT-proBNP να είναι <200 pmol/L.

Εν γένει, η μέτρηση των επιπέδων BNP είναι χρήσιμη στην αξιολόγηση οποιασδήποτε νέας θεραπευτικής αγωγής για την καρδιακή ανεπάρκεια είτε ενός νέου φαρμάκου είτε άλλων μη φαρμακευτικών στρατηγικών όπως π.χ. της μηχανικής υποστήριξης της αριστερής κοιλίας (LVAD, left ventricular assist device) ή της αμφικοιλιακής θηματοδότησης³².

7. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΝΑΤΡΙΟΥΡΗΤΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ

Οι ωφέλιμες φυσιολογικές ιδιότητες των νατριουρητικών πεπτιδίων οδήγησαν στη σκέψη της χρήσης των ιδιοτήτων αυτών για τη ρύθμιση του ανθρώπινου νευροορμονικού συστήματος ώστε να υπάρξει θεραπευτική βελτίωση στο καρδιαγγειακό σύστημα. Δύο είναι οι προσεγγίσεις: είτε εξωγενής χορήγησή τους με τη μορφή ανασυνδυασμένου BNP (nesiritide, Scios Inc., Fremont, CA, ΗΠΑ) ή ανασυνδυασμένου ANP (carperitide) είτε με τη μορφή αναστολέων της ενδοπεπτιδάσης NEP-που αποικοδομεί τα BNP, ANP-(omapatrilat, Bristol Myers-Squibb, NJ, ΗΠΑ). Στις υπάρχουσες κλινικές μελέτες η νεσιριτιδίδη έδειξε βελτιωμένες αιμοδυναμικές παραμέτρους σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια με αυξημένο ωστόσο κόστος θεραπείας, ενώ η ομαπατριλάτη σε συνδυασμό με ACE αναστολείς έδειξε μεγαλύτερο όφελος στην αντιμετώπιση της υπέρτασης⁷.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 1981;28:89-94.
2. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988;332:78-81.
3. Kangawa K, Tawaragi Y, Oikawa S, Mizuno A, Sakuragawa Y, Nakazato H et al. Identification of rat gamma atrial natriuretic polypeptide and characterization of the cDNA encoding its precursor. *Nature* 1984;312:152-5.
4. Sudoh T, Maekawa K, Kojima M, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human brain natriuretic peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;159:1427-34.
5. Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *Eur J Heart Fail* 2004;6:257-60.
6. Vanderheyden M, Bartunek J, Goethals M. Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects. *Eur J Heart Fail* 2004;6:261-8.
7. de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet* 2003;362:316-22.
8. Clerico A, Emdin M. Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of cardiac natriuretic peptides: a review. *Clin Chem* 2004;50:33-50.
9. Yap LB, Ashrafian H, Mukerjee D, Coghlan JG, Timms PM. The natriuretic peptides and their role in disorders of right heart dysfunction and pulmonary hypertension. *Clin Biochem* 2004;37:847-56.
10. Tsuruda T, Boerrigter G, Huntley BK, Noser JA, Cataliotti A, Costello-Boerrigter LC et al. Brain natriuretic Peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases. *Circ Res* 2002;91:1127-34.

11. Baughman KL. B-type natriuretic peptide—a window to the heart. *N Engl J Med* 2002;347:158-9.
12. Clerico A, Del Ry S, Giannessi D. Measurement of cardiac natriuretic hormones (atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and related peptides) in clinical practice: the need for a new generation of immunoassay methods. *Clin Chem* 2000;46:1529-34.
13. Hammerer-Lercher A, Neubauer E, Muller S, Pachinger O, Puschendorf B, Mair J. Head-to-head comparison of N-terminal pro-brain natriuretic peptide, brain natriuretic peptide and N-terminal pro-atrial natriuretic peptide in diagnosing left ventricular dysfunction. *Clin Chim Acta* 2001;310:193-7.
14. Mueller T, Gegenhuber A, Poelz W, Haltmayer M. Head-to-head comparison of the diagnostic utility of BNP and NT-proBNP in symptomatic and asymptomatic structural heart disease. *Clin Chim Acta* 2004;341:41-8.
15. Pfister R, Scholz M, Wielckens K, Erdmann E, Schneider CA. Use of NT-proBNP in routine testing and comparison to BNP. *Eur J Heart Fail* 2004;6:289-93.
16. Collinson PO, Barnes SC, Gaze DC, Galasko G, Lahiri A, Senior R. Analytical performance of the N terminal pro B type natriuretic peptide (NT-proBNP) assay on the Elecsys 1010 and 2100 analysers. *Eur J Heart Fail* 2004;6:365-8.
17. Wu AH, Smith A. Biological variation of the natriuretic peptides and their role in monitoring patients with heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004;6:355-8.
18. Goetze JP, Kastrup J, Pedersen F, Rehfeld JF. Quantification of pro-B-type natriuretic peptide and its products in human plasma by use of an analysis independent of precursor processing. *Clin Chem* 2002;48:1035-42.
19. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 2002;347:161-7.
20. McCullough PA, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Herrmann HC, Steg PG et al. B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation* 2002;106:416-22.
21. Dao Q, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Harrison A, Amirnovin R, Lenert L et al. Utility of B-type natriuretic peptide in the diagnosis of congestive heart failure in an urgent-care setting. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:379-85.
22. Mueller C, Scholer A, Laule-Kilian K, Martina B, Schindler C, Buser P et al. Use of B-type natriuretic peptide in the evaluation and management of acute dyspnea. *N Engl J Med* 2004;350:647-54.
23. Dahlstrom U. Can natriuretic peptides be used for the diagnosis of diastolic heart failure? *Eur J Heart Fail* 2004;6:281-7.
24. Maisel AS, Koon J, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Gardetto N et al. Utility of B-natriuretic peptide as a rapid, point-of-care test for screening patients undergoing echocardiography to determine left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 2001;141:367-74.
25. Kirk V, Bay M, Parner J, Krogsgaard K, Herzog TM, Boesgaard S et al. N-terminal proBNP and mortality in hospitalised patients with heart failure and preserved vs. reduced systolic function: data from the prospective Copenhagen Hospital Heart Failure Study (CHHF). *Eur J Heart Fail* 2004;6:335-41.
26. de Lemos JA, Morrow DA, Bentley JH, Omland T, Sabatine MS, McCabe CH et al. The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001;345:1014-21.
27. Jernberg T, James S, Lindahl B, Stridsberg M, Venge P, Wallentin L. NT-proBNP in unstable coronary artery disease—experiences from the FAST, GUSTO IV and FRISC II trials. *Eur J Heart Fail* 2004;6:319-25.
28. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T et al. Plasma natriuretic

- peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med* 2004;350:655-63.
29. Hildebrandt P, Boesen M, Olsen M, Wachtell K, Groenning B. N-terminal pro brain natriuretic peptide in arterial hypertension—a marker for left ventricular dimensions and prognosis. *Eur J Heart Fail* 2004;6:313-7.
 30. Bettencourt P. NT-proBNP and BNP: biomarkers for heart failure management. *Eur J Heart Fail* 2004;6:359-63.
 31. Richards M, Troughton RW. NT-proBNP in heart failure: therapy decisions and monitoring. *Eur J Heart Fail* 2004;6:351-4.
 32. Theodorakis GN, Flevari P, Kroupis C, Adamopoulos S, Kolokathis F, Kostopoulou A et al. Anti-inflammatory effects of cardiac resynchronization therapy in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004;(submitted).