

**UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
WYDZIAŁ LEKARSKI**

Monika Szumańska

**Spoczynkowy poziom N-końcowego propeptydu natriuretycznego typu B (NT-proBNP)
a elektrokardiograficzna próba wysiłkowa
u chorych ze stabilną dusznicą bolesną bez cech dysfunkcji lewej komory serca**

P R A C A D O K T O R S K A

Promotor: dr hab. med. Andrzej Surdacki

**Pracę wykonano
w II Klinice Kardiologii Instytutu Kardiologii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. Jacek S. Dubiel**

Kraków 2007

SPIS TREŚCI

WYJAŚNIENIE STOSOWANYCH SKRÓTÓW	7
1. WPROWADZENIE	8
1.1. Typy peptydów natriuretycznych	8
1.2. Wydzielanie ANP i BNP	11
1.3. Efekty biologiczne ANP i BNP	13
1.4. Rozkład ANP i BNP	15
1.5. BNP i NT-proBNP w schorzeniach układu sercowo-naczyniowego	16
1.5.1. Chorzy z ostrą dusznością – oznaczenie BNP/NT-proBNP przy przyjęciu do oddziału pomocy doraźnej	16
1.5.1.1. <i>BNP – badania BNP, REDHOT i BASEL</i>	16
1.5.1.2. <i>NT-proBNP – badania PRIDE i ICON</i>	20
1.5.1.3. <i>Tzw. „szara strefa” stężenia BNP/NT-proBNP</i>	22
1.5.2. Chorzy z ostrą dusznością pochodzenia sercowego – oznaczenie BNP/NT-proBNP przed wypisem ze szpitala	24
1.5.3. Chorzy z przewlekłą niewydolnością serca – rola oznaczenia BNP/NT-proBNP w stratyfikacji ryzyka i monitorowaniu leczenia	24
1.5.4. Chorzy z objawami wskazującymi na przewlekłą niewydolność serca i pacjenci bezobjawowi – oznaczenie BNP/NT-proBNP jako badanie przesiewowe	26
1.5.5. Chorzy z ostrymi zespołami wieńcowymi	27
1.5.6. BNP/NT-proBNP a inne choroby układu sercowo-naczyniowego	32
1.5.6.1. <i>Wady zastawkowe serca i migotanie przedsionków</i>	32
1.5.6.2. <i>Kardiomiopatia przerostowa</i>	34
1.5.6.3. <i>Nadciśnienie tętnicze, przerost i dysfunkcja rozkurczowa lewej komory</i>	34
1.5.6.4. <i>Nadciśnienie płucne i zatorowość płucna</i>	35
1.5.6.5. <i>Amyloidoza serca</i>	37
2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY	38
3. METODYKA	40
3.1. Grupa badana	40
3.2. Badanie echokardiograficzne	41
3.3. Elektrokardiograficzna próba wysiłkowa	42
3.4. Badanie koronarograficzne	43
3.5. Oznaczenie stężenia NT-proBNP w osoczu krwi	43
3.6. Oznaczenie klirensu endogennej kreatyniny	44
3.7. Analiza statystyczna	45

4.	WYNIKI	47
4.1.	Badanie zgodności stężenia NT-proBNP z rozkładem normalnym	47
4.2.	Poziom NT-proBNP a charakterystyka badanych osób	48
4.3.	Poziom NT-proBNP a wyniki testu wysiłkowego	54
4.4.	Poziom NT-proBNP a charakterystyka badanych osób i wyniki testu wysiłkowego dla 60 mężczyzn, u których wykonano koronarografię	57
4.5.	Analiza wieloczynnikowa – zmienne wpływające na poziom NT-proBNP	59
5.	DYSKUSJA	61
5.1.	Peptyd natriuretyczny typu B a niedokrwienie <i>myocardium</i> w stabilnej chorobie wieńcowej	61
5.2.	Peptyd natriuretyczny typu B a rozległość miażdżycy tętnic wieńcowych i klirens endogennej kreatyniny	69
5.3.	Konsekwencje kliniczne zaobserwowanych zależności	72
6.	WNIOSKI	76
7.	STRESZCZENIE	77
8.	SUMMARY	79
9.	PIŚMIENNICTWO	81

SPIS TABEL

Tab. 1. Peptydy natriuretyczne	8
Tab. 2. Kwartyle poziomu NT-proBNP a charakterystyka badanych chorych	49
Tab. 3. Stężenie NT-proBNP a charakterystyka badanych chorych – wyniki analizy jednoczynnikowej dla całej grupy 100 badanych osób z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym	53
Tab. 4. Kwartyle poziomu NT-proBNP a analizowane parametry uzyskane w trakcie testu wysiłkowego dla całej grupy 100 badanych osób	54
Tab. 5. Stężenie NT-proBNP a analizowane parametry uzyskane w trakcie testu wysiłkowego – wyniki analizy jednoczynnikowej dla całej grupy 100 badanych osób z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym	54
Tab. 6. NT-proBNP a charakterystyka pacjentów i wyniki testu wysiłkowego – analiza jednoczynnikowa z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym dla 60 mężczyzn, u których wykonano koronarografię	58
Tab. 7. Wyniki liniowej regresji wielokrotnej z krokowym doбором zmiennych dla całej grupy 100 badanych osób – parametry powiązane w sposób niezależny z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym	59
Tab. 8. Wyniki liniowej regresji wielokrotnej z krokowym doбором zmiennych po ograniczeniu analizy do 60 mężczyzn, u których została wykonana koronarografia – parametry powiązane w sposób niezależny z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym	60

SPIS RYCIN

Ryc. 1. Struktura peptydów natriuretycznych	9
Ryc. 2. Schemat biosyntezy BNP i NT-proBNP	10
Ryc. 3. Regulacja wydzielania i efekty działania peptydów natriuretycznych	14
Ryc. 4A–C. Histogramy stężeń NT-proBNP w grupie kobiet (A), mężczyzn (B) oraz dla całej grupy badanych (C) – wyniki testu Shapiro-Wilka	47
Ryc. 5. NT-proBNP a wiek	50
Ryc. 6. NT-proBNP a odsetek kobiet	50
Ryc. 7. NT-proBNP a BMI	51
Ryc. 8. NT-proBNP a EF i LVMI	51
Ryc. 9. NT-proBNP a poziom kreatyniny	52
Ryc. 10. NT-proBNP a klirens kreatyniny	52
Ryc. 11. NT-proBNP a koronarografia	53
Ryc. 12A. NT-proBNP a czas wysiłku	55
Ryc. 12B. NT-proBNP a praca wykonana podczas testu	55
Ryc. 13. NT-proBNP a suma znamienych obniżek odcinka ST podczas testu	56
Ryc. 14. Log [NT-proBNP] vs. Praca wykonana podczas wysiłku (n=100)	56
Ryc. 15. Log [NT-proBNP] vs. Suma znamienych obniżek ST podczas testu (n=100)	57
Ryc. 16. Log [NT-proBNP] vs. Praca wykonana podczas wysiłku (n=60)	58
Ryc. 17. Log [NT-proBNP] vs. Suma znamienych obniżek ST podczas testu (n=60)	59

WYJAŚNIENIE STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ANP	- <i>atrial natriuretic peptide</i> – przedsionkowy peptyd natriuretyczny
BMI	- <i>body mass index</i> – indeks masy ciała
BNP	- <i>brain natriuretic peptide; B-type natriuretic peptide</i> – peptyd natriuretyczny typu B
CNP	- <i>C-type natriuretic peptide</i> – peptyd natriuretyczny typu C
EF	- <i>ejection fraction</i> – frakcja wyrzutowa
KKr	- klirens endogennej kreatyniny
LVMI	- <i>left ventricular mass index</i> – indeks masy mięśnia lewej komory serca
MET	- <i>metabolic equivalent</i> – równoważnik metaboliczny pracy (3,5 ml O ₂ /kg/min.)
NT-proANP	- <i>N-terminal pro-atrial natriuretic peptide</i> – N-końcowy fragment prohormonu przedsionkowego peptydu natriuretycznego
NT-proBNP	- <i>N-terminal pro-B-type natriuretic peptide</i> – N-końcowy propeptyd natriuretyczny typu B
POChP	- przewlekła obturacyjna choroba płuc

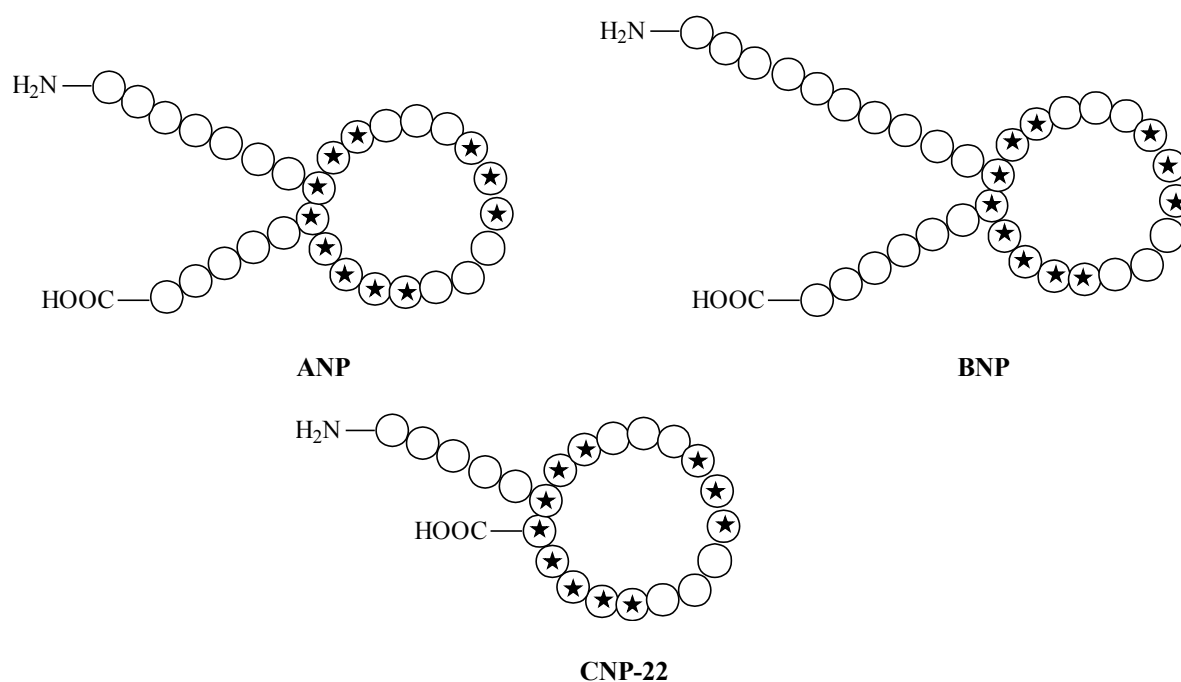
1. WPROWADZENIE

1.1. Typy peptydów natriuretycznych

W 1956 roku B. Kisch opisał ziarnistości w komórkach mięśni przedsionków serca. W 1981 roku A.J. de Bold i wsp. zaobserwowali odpowiedź natriuretyczną po dożylnym podaniu wyciągu z przedsionków serca szczura. Lata 80-te XX wieku przyniosły odkrycie rodziny wykazujących podobieństwo strukturalne związków chemicznych, określanych mianem peptydów natriuretycznych (Tab.1; Ryc.1).

Tab. 1. Peptydy natriuretyczne

	ANP	BNP	CNP	Urodylatyna
Nazwy	przedsionkowy peptyd natriuretyczny (ANP); przedsionkowy czynnik natriuretyczny (ANF)	mózgowy peptyd natriuretyczny; peptyd natriuretyczny typu B	peptyd natriuretyczny typu C	Urodylatyna
Występowanie	przedsionki serca, w mniejszym stopniu komory serca i nerki	głównie komory serca, także przedsionki serca i mózg	mózg, chondrocyty, śródbłonek naczyń w obecności cytokin prozapalnych	syntetyzowany w nerkach i wydalany z moczem
Liczba aminokwasów	28	32	53 lub 22	32
Efekty biologiczne	natriureza, diureza, rozszerzenie naczyń, hamowanie proliferacji miocytów naczyń, przeciwdziałanie przerostowi i włóknieniu <i>myocardium</i> , antagonizm w stosunku do układu renina-angiotensyna, wazopresyny i układu współczulnego		rozszerzenie naczyń, hamowanie proliferacji miocytów naczyń	natriureza, diureza
Odkrycie	1981- de Bold et al. 1984- Kangawa & Matsuo	1988- Sudoh et al.	1990- Sudoh et al.	1988- Schulz-Knappe et al.

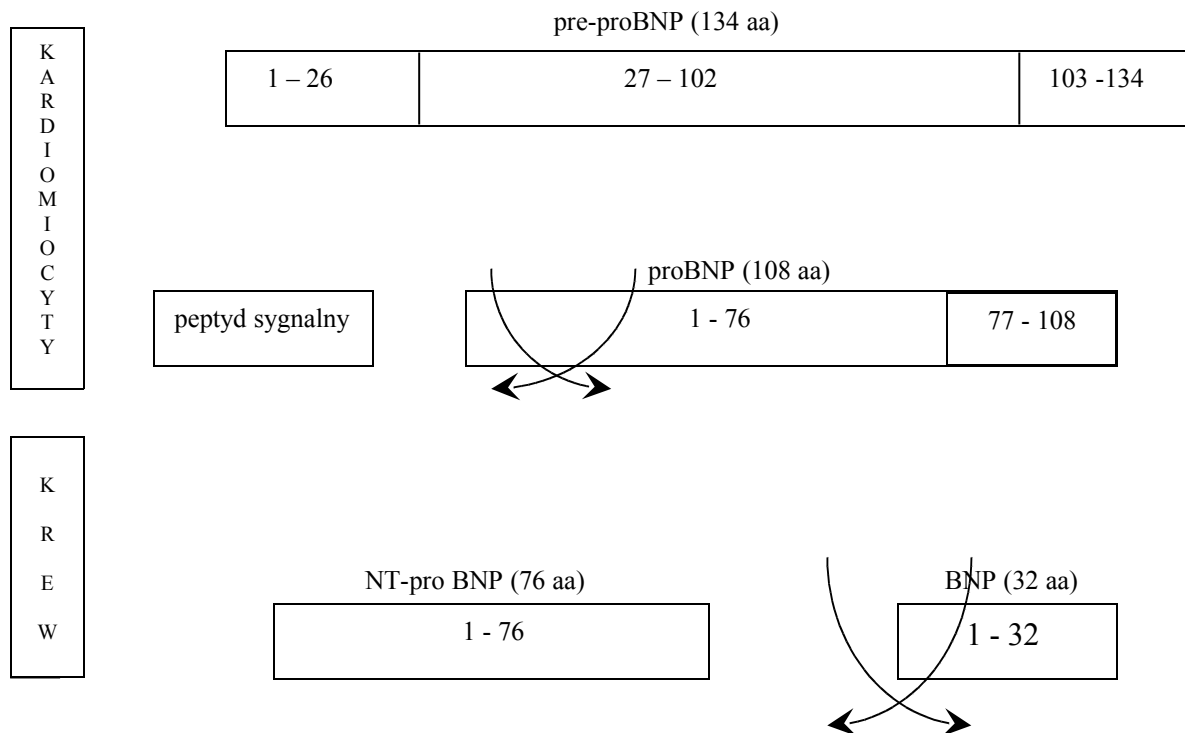


Ryc. 1. Struktura peptydów natriuretycznych (aminokwasy identyczne u wszystkich peptydów oznaczono gwiazdkami)

Przedsionkowy peptyd natriuretyczny (ANP, *atrial natriuretic peptide*) (także okreśłany jako α -ANP) jest cyklicznym polipeptydem złożonym z 28 aminokwasów syntetyzowanym i wydzielanym głównie przez kardiomiocyty przedsionków serca. Po odcięciu N-końcowego 25-aminowasowego tzw. peptydu sygnałowego od 151-aminokwasowego pre-proANP powstaje 126-aminokwasowy prohormon (proANP, także znany jako γ -ANP), który jest magazynowany w ziarnistościach wydzielniczych w kardiomiocytach przedsionkowych. W czasie wydzielania proANP ulega ograniczonej proteolizie przy udziale proteazy serynowej, tzw. koryny [Wu et al., 2002] do 28-aminowasowego aktywnego biologicznie ANP oraz 98-aminokwasowego N-końcowego fragmentu (NT-proANP, *N-terminal pro-atrial natriuretic peptide*) [Yandle, 1994].

Peptyd natriuretyczny typu B (BNP, *B-type natriuretic peptide*) jest 32-aminokwasowym peptydem podobnym do ANP i zawiera 17-aminokwasową cykliczną strukturę wspólną dla wszystkich peptydów natriuretycznych (Ryc.1). BNP pierwotnie wykryto w tkance mózgowej [Sudoh et al., 1988], lecz najwyższe stężenie peptydu stwierdzono w kardiomiocytach komórek i przedsionków serca [Mukoyama et al., 1991]. Po odcięciu N-końcowego 26-aminokwasowego peptydu sygnałowego od 134-aminowasowego peptydu (pre-proBNP) przez protezę serynową wytwarzany jest prohormon (proBNP) złożony ze 108 aminokwasów, który ulega hydrolizie do 32-aminowasowego właściwego BNP oraz 76-

aminowasowego N-końcowego fragmentu (NT-proBNP, *N-terminal pro-B-type natriuretic peptide*) [Sawada et al., 1997; Potter et al., 2006] (Ryc.2).



Ryc. 2. Schemat biosyntezy BNP i NT-proBNP (aa = aminokwasy; prostokąty przedstawiają łańcuchy peptydowe)

Peptyd natriuretyczny typu C (CNP, *C-type natriuretic peptide*) istnieje w 2 formach złożonych z 53 bądź 22 aminokwasów, miejscem jego produkcji jest ośrodkowy układ nerwowy, chondrocyty i stymulowany przez cytokiny pozapalne śródbłonek naczyń [Potter et al., 2006]. Wykazuje najwyższą zawartość w mózgu spośród wszystkich peptydów natriuretycznych [Minamino et al., 1991]. CNP powoduje rozszerzenie naczyń krwionośnych [Clavell et al., 1993] oraz hamuje proliferację miocytów naczyniowych [Furuya et al., 1991]. Ponadto Kalra i wsp. (2003) stwierdzili wewnętrzsercowe uwalnianie CNP u chorych z niewydolnością serca.

Urodylatyna jest 32-aminokwasowym peptydem produkowanym w nerkach przez rozszczepienie proANP i wydalany z moczem [Schulz-Knappe et al., 1988]. Jej działanie jest podobne do ANP, jednak ograniczone do nerek. Oporność na degradację przez obojętną endopeptydazę w kanalikach proksymalnych nerek ułatwia odpowiedź natriuretyczną

wynikającą z lokalnego działania peptydu na poziomie kanalików zbiorczych; urodylatynie przypisuje się pewną rolę w regulacji odpowiedzi natriuretycznej na dietę bogatosodową [Gagelmann et al., 1988; Meyer et al., 1996].

1.2. Wydzielanie ANP i BNP

ANP jest wydzielany przede wszystkim przez kardiomiocyty przedsionków serca, natomiast większość produkcji BNP ma miejsce w obrębie komór. U ludzi zdrowych stężenie ANP w osoczu jest 5–10 krotnie wyższe niż BNP, zaś poziom CNP jest porównywalny z BNP (rzędu 1 pmol/l) [Mukoyama et al., 1991; Potter et al., 2006]. W niewydolności serca wzrasta generacja i stężenia ANP (10–30-krotnie), a zwłaszcza BNP (>100-krotnie), przy czym podwyższa się stosunek poziomów BNP do ANP. Natomiast stężenie CNP w tej sytuacji rośnie jedynie nieznacznie [Potter et al., 2006].

Bodźcem do wydzielania ANP jest rozciągnięcie ściany przedsionka w odpowiedzi na zwiększone napięcie jego ściany. Zwykle sytuacja ta ma miejsce przy wzroście ciśnienia w świetle przedsionka. Dowodem na rzecz roli napięcia ściany przedsionka jako bezpośredniego bodźca do sekrecji ANP jest brak wzrostu poziomu peptydu w tamponadzie serca pomimo faktu, że ciśnienie śródprzedsionkowe jest wówczas podwyższone [Mancini et al., 1987]. Ponieważ jednak wzrasta także ciśnienie między blaszkami osierdzia, zgodnie z prawem Laplace'a napięcie ściany pozostaje niezmienione. Panayiotou i wsp. (1995) stwierdzili szybki wzrost stężenia ANP bezpośrednio po usunięciu płynu z worka osierdziowego pomimo spadku ciśnienia w przedsionkach.

ProANP jest gromadzony w ziarnistościach wydzielniczych kardiomiocytów przedsionków, zaś jego rozszczepienie do ANP i NT-proANP zachodzi równocześnie z egzocytozą tych ziarnistości. W związku z tym poziom ANP szybko wzrasta w odpowiedzi na takie bodźce podwyższające ciśnienie wewnątrzprzedsionkowe jak dieta bogata w sód, przyjęcie pozycji leżącej, dożylna infuzja płynów, podawanie mineralokortykoidów czy zanurzenie ciała w wodzie.

Podobnie jak w przypadku ANP, rozszczepienie proBNP do BNP i NT-proBNP ma miejsce przy wydzielaniu peptydu do krwi. Jednak w porównaniu z ANP poziom BNP jest

bardziej stabilny, a w kardiomiocytach komórek serca nie jest on gromadzony w ziarnistościach, wobec czego jego sekrecja jest bardziej zależna od nasilenia ekspresji jego genu niż wpływu krótko działających bodźców [Potter et al., 2006]. Zmiany stężenia BNP występują dopiero przy utrzymywaniu się danego bodźca przez dłuższy okres czasu, w przeciwieństwie do bardziej zmiennej sekrecji ANP. Indukcja genu dla BNP pozostaje pod kontrolą czynnika mechanicznego, a mianowicie naprężenia w ścianie lewej komory. Stwierdzono bowiem silniejsze korelacje między poziomem BNP a końcoworozkurczowym naprężeniem ściany lewej komory niż z ciśnieniem końcoworozkurczowym [Iwanaga et al., 2006]. Należy zaznaczyć, że w niektórych stanach klinicznych, jak zwężenie lewego ujścia żylnego czy migotanie przedsionków, źródłem nadmiernej sekrecji BNP jest przede wszystkim mięsień przedsionków; wówczas stwierdzono obecność proBNP, podobnie jak proANP, w obrębie ziarnistości wydzielniczych w kardiomiocytach przedsionkowych [Goetze et al., 2006].

Poza czynnikami działającymi za pośrednictwem zmian o charakterze hemodynamicznym, a zatem poprzez napięcie ścian przedsionków i komórek serca, na generację ANP i BNP wpływa także hipoksja [Chun et al., 2003; Hopkins et al., 2004; Luo et al., 2006] oraz mediatory biochemiczne. Stwierdzono wzmożoną generację i uwalnianie obu tych peptydów pod wpływem angiotensyny II, wazopresyny (poprzez receptory V_1), endoteliny 1 (poprzez receptory typu A) i fenylefryny (za pośrednictwem receptorów α_1) [Thibault et al., 1999; de Bold et al., 2001; Potter et al., 2006]. Natomiast wybiórcze wzmożenie ekspresji genu dla BNP, a nie ANP, mogą powodować cytokiny pozapalne: czynnik martwicy guza α oraz interleukina 1β [Ma et al., 2004].

Na poziom peptydów natriuretycznych wpływają także leki. Diuretyki, blokery układu renina-angiotensyna, wazodilatatory, amiodaron, aminy sympatykomimetyczne, a także prawdopodobnie statyny i allopurinol obniżają ich stężenie, zaś przeciwną tendencję obserwowano po glikozydach naparstnicy i aspirynie. Natomiast leki blokujące receptory beta-adrenergiczne podwyższają poziom peptydów w nadciśnieniu tętniczym, zaś w niewydolności serca mogą powodować przejściową wyżkę ich stężenia, podczas gdy przeciwny efekt ujawnia się dopiero po dłuższym czasie [Troughton et al., 2007].

1.3. Efekty biologiczne ANP i BNP

Głównym skutkiem działania ANP i BNP jest zmniejszenie obciążenia wstępnego i następczego serca [Stein & Levin, 1998], zaś ich efekty biologiczne wynikają z wiązania się z receptorami typu A i B (tzw. błonową cyklazą guanylową) z następową wzmożoną generacją cyklicznego 3',5'-monofosforanu guanozyny, wewnątrzkomórkowego tzw. drugiego przekaźnika (*second messenger*) uruchamiającego kaskadę procesów biochemicznych.

ANP i BNP powodują rozkurcz mięśni gładkich ściany naczyniowej naczyń tętniczych, co wywołuje wzrost średnicy naczyń, spadek oporu i zmniejszenie ciśnienia. W zakresie nerek peptydy natriuretyczne rozszerzają tętniczki doprowadzające i kurczą tętniczki odprowadzające, co zwiększa frakcję filtracyjną. Dodatkowo sprzyja temu rozluźnienie miocytów w obrębie *mesangium* z następowym wzrostem powierzchni filtracji. Poza wzrostem filtracji kłębkowej w efekcie natriuretycznym uczestniczy także wpływ peptydów na kanaliki nerkowe; działanie to częściowo ma charakter bezpośredni w zakresie kanalików zbiorczych, częściowo zaś polega na antagonizowaniu działania angiotensyny II, aldosteronu i wazopresyny. Nie sposób wreszcie pominąć roli hamowania aktywności sympatycznej i redukcji wydzielania reniny w efektach nerkowych ANP i BNP. Zatem cały szereg mechanizmów uczestniczy w odpowiedzi diuretycznej i natriuretycznej, której efektem jest zmniejszenie objętości osocza. Ponadto do redukcji objętości osocza przyczynia się wzrost ciśnienia hydrostatycznego w kapilarach obwodowych w następstwie rozkurczu naczyń przedwłośniczkowych oraz zwiększenie ich przepuszczalności ze wzmożonym przesączeniem płynu do przestrzeni pozakomórkowej.

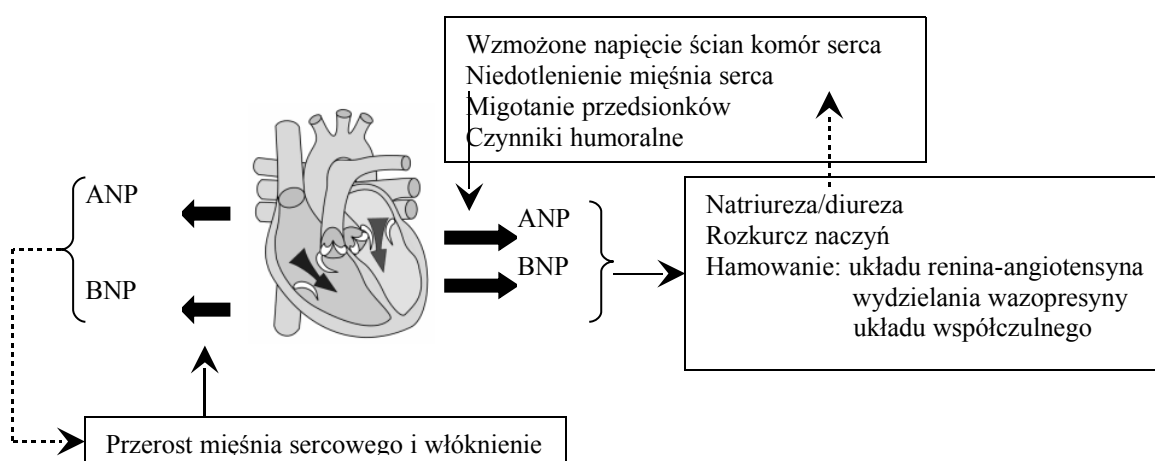
Jak wspomniano wcześniej, ANP i BNP wchodzą także w interakcje z innymi układami regulacyjnymi ustroju. Działają one jako funkcjonalni antagoniści układu renina-angiotensyna-aldosteron hamując produkcję jego składników oraz przeciwstawiając się efektom ich działania. Peptydy natriuretyczne redukują także aktywność układu współczulnego; zmniejszają czułość baroreceptorów, przeciwstawiając się odruchowej aktywacji sympatycznej, hamują uwalnianie noradrenaliny z zakończeń nerwów współczulnych, osłabiają odpowiedź skurczową miocytów naczyniowych na noradrenalinę i angiotensynę II, a także wywierają wpływ na ośrodkowy układ nerwowy. Centralne efekty peptydów natriuretycznych wynikają m. in. z braku bariery krew-mózg w części obszarów ośrodkowego systemu nerwowego obfitujących w receptory dla tych mediatorów, a zarazem uczestniczących w regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej oraz

ciśnienia tętniczego. Centralne efekty ANP i BNP to przede wszystkim redukcja aktywność współczulnej, a także hamowanie wydzielania wazopresyny i zmniejszenie spożycia wody w wyniku zmniejszenia pragnienia. Ponadto omawiane peptydy hamują wydzielanie mineralokortykoidów i glikokortykoidów przez korę nadnerczy, a także redukują generację endoteliny 1 przez śródbłonek naczyniowy [Potter et al., 2006].

ANP i BNP przeciwdziałają przerostowi kardiomiocytów [Booz, 2005] oraz hamują tworzenie tkanki łącznej w obrębie ściany lewej komory serca [Tamura et al., 2000; Ogawa et al., 2001; Tsuruda et al., 2002]. W efekcie tym bierze udział zarówno bezpośredni wpływ na fibroblasty, jak i wspomniany wcześniej antagonizm w stosunku do układu renina-angiotensyna-aldosteron, układu sympatycznego i hamowanie generacji endoteliny. Podobnie oba te mechanizmy najprawdopodobniej odpowiedzialne są za hamowanie proliferacji miocytów ściany naczyniowej przez peptydy natriuretyczne [Itoh et al., 1990].

Ponadto BNP i ANP wywierają działanie w obrębie płuc. Poza rozszerzaniem naczyń rozkurczają one także mięśniówkę dróg oddechowych [Potter et al., 2006], co – niezależnie od zasadniczych efektów biologicznych peptydów natriuretycznych – może być korzystne u chorych z ostrą niewydolnością serca, a zatem z bardzo wysokimi poziomami ANP i BNP.

Zwiększone wydzielanie peptydów natriuretycznych uważa się za element złożonego układu regulacyjnego. W szeregu stanów chorobowych wzrasta generacja ANP i BNP przez serce, co stanowi element adaptacji do zmienionych warunków na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego (Ryc.3) [Stein & Levin, 1998].



Ryc. 3. Regulacja wydzielania i efekty działania peptydów natriuretycznych (ciągłe strzałki oznaczają pobudzenie, kropkowane – hamowanie)

1.4. Rozkład ANP i BNP

ANP jest usuwany z krążenia w wyniku wiązania z receptorami typu C (*clearance*) z następującą internalizacją i degradacją hormonu [Maack et al., 1987] oraz poprzez hydrolizę przez obojętną endopeptydazę (głównie w rąbku szczoteczkowym kanalików proksymalnych nerek) [Roques et al., 1993]. Podobnie BNP ulega degradacji na dwu powyższych drogach: przez wiązanie się z receptorami typu C (ok. 70% metabolizmu BNP), oraz przez rozkład przez obojętną endopeptydazę (ok. 30%). Okres półtrwania ANP w osoczu krwi wynosi ok. 2–3 min., BNP ok. 20 min., zaś NT-proBNP ok. 120 min. [Silver et al., 2004; Potter et al., 2006; Mueller et al., 2007]. Istnieją doniesienia, że okres półtrwania BNP może być nawet krótszy (ok. 6 min.) [Davis et al., 2006], niemniej jednak nie ulega wątpliwości, że jest on dłuższy niż w przypadku ANP, co może być związane z mniejszym powinowactwem do wyłapujących go receptorów oraz obojętnych endopeptydaz [Yandle, 1994].

Okresy półtrwania NT-proANP i NT-proBNP we krwi są wielokrotnie dłuższe w porównaniu z ANP i BNP, w wyniku czego ich stężenia są wyższe, zwłaszcza przy schorzeniach prowadzących do wzmożonej generacji peptydów natriuretycznych. Ponadto poziom NT-proANP w osoczu wykazuje mniejszą zmienność niż ANP [McDowell et al., 2002], zaś NT-proBNP niższą niż BNP [Wijbenga et al., 1999; Schou et al., 2007]. Co więcej, w warunkach laboratoryjnych zarówno NT-proANP, jak i BNP są stabilniejsze od ANP [Davidson et al., 1995; Buckley et al., 1999]. Wreszcie badania stabilności NT-proBNP w przechowywanych próbkach osocza wskazują na jego wyższą trwałość niż BNP [Mueller et al., 2004b]. Powyższe względy, a także dominujący wpływ ekspresji genu (a nie krótko działających bodźców) na uwalnianie BNP i NT-proBNP (podrozdział 1.2) sprawiają, że NT-proBNP wydaje się być bardziej użytecznym wskaźnikiem funkcji lewej komory w praktyce klinicznej w porównaniu z ANP, NT-proANP i BNP.

1.5. BNP i NT-proBNP w schorzeniach układu sercowo-naczyniowego

1.5.1. Chorzy z ostrą dusznością – oznaczenie BNP/NT-proBNP przy przyjęciu do oddziału pomocy doraźnej

W praktyce klinicznej przypisuje się istotną rolę peptydom natriuretycznym typu B w różnicowaniu przyczyn duszności. Na podstawie badań wieloośrodkowych BNP (*Breathing Not Properly multinational study*), PRIDE (*N-terminal PPro-BNP Investigation of Dyspnea in the Emergency department study*) i ICON (*International Collaborative Of NT-proBNP study*) zaproponowano określone wartości odcięcia dla poziomów BNP i NT-proBNP, pozwalające wykorzystywać oba powyższe peptydy do podejmowania decyzji w procesie diagnostyczno-terapeutycznym. Wiadomo, że w idealnym przypadku optymalny wskaźnik charakteryzuje się 100% czułością i specyficzną. W praktyce jednak znalezienie parametru, który spełnia taki warunek nie jest możliwe. Za spadek czułości odpowiedzialne są wyniki fałszywie ujemne, zaś specyficznosc maleje ze wzrostem odsetka przypadków fałszywie dodatnich. Wiadomo, że między czułością i specyficzną zachodzi zwykle zależność odwrotna. W przypadku peptydów natriuretycznych w wykrywaniu niewydolności serca jako przyczyny ostrej duszności przesunięcie wartości progowych w kierunku niższych wartości skutkuje wzrostem czułości kosztem spadku specyficznosci, czyli eliminowane są wyniki fałszywie ujemne, wzrasta zaś ryzyko wyniku fałszywie dodatniego. Z punktu widzenia dobra chorego wynik fałszywie ujemny stanowi realne zagrożenie. Z tego powodu proponowane algorytmy wykorzystania BNP i NT-proBNP w różnicowaniu przyczyn ostrej duszności kładą nacisk na dolną wartość progową poziomu peptydów natriuretycznych, gdy odsetek wyników fałszywie ujemnych jest nieznacznym. Należy zaznaczyć, że z praktycznego punktu widzenia bardziej użyteczne są ujemna i dodatnia wartość predykcyjna, na które – poza czułością i specyficzną – wpływa także częstość występowania diagnozowanego schorzenia w badanej populacji.

1.5.1.1. BNP – badania BNP, REDHOT i BASEL

Już w 1994 roku Davis i wsp. zaobserwowali podwyższenie poziomu BNP u chorych z ostrą dusznością spowodowaną zastoinową niewydolnością serca w porównaniu do pacjentów bez niewydolności serca, u których przyczyną duszności były schorzenia płuc. W 2001 roku Dao i wsp., obserwując 250 chorych z ostrą dusznością, potwierdzili związek wysokiego stężenia BNP z niewydolnością serca. Cytowane publikacje stały się inspiracją do badania

BNP. W badaniu tym analizowano przebieg choroby u 1586 pacjentów zgłaszających się do izby przyjęć z powodu duszności. Wykluczono z badania pacjentów z ostrym zawałem serca, zaawansowaną niewydolnością nerek, a także osoby, u których przyczyna objawów była w sposób oczywisty inna niż niewydolność serca. Bezpośrednio po zgłoszeniu się chorego pobierano próbkę krwi celem oznaczenia BNP metodą immunochemiczną (*Biosite, Inc.*). Zaobserwowano, że przyjęcie jako wartość odcięcia poziomu BNP 100 pg/ml dawało 89% ujemną wartość predykcyjną w aspekcie wykluczenia niewydolności serca jako przyczyny duszności [Maisel et al., 2002]. Dodatnia wartość predykcyjna wynosiła jednak tylko 79%, co wynikało z niższej specyficzności (76%) wobec 90% czułości. Na podstawie badania BNP opracowano w 2004 roku algorytm postępowania, w którym jako kolejny próg decyzyjny zaproponowano stężenie BNP 500 pg/ml, powyżej którego rozpoznanie powyższe jest wysoce prawdopodobne [Silver et al., 2004]. W artykule opublikowanym po prezentacji głównych wyników badania BNP wykazano, że wykorzystanie dolnej wartości progowej oznaczenia BNP w ocenie klinicznej pacjenta zwiększa trafność postawionej diagnozy z 74% do 81% [McCullough et al., 2002]. Efektem badania BNP było wyodrębnienie tzw. „szarej strefy” stężenia peptydów natriuretycznych, gdy stężenie BNP mieści się między dolną a górną wartością progową, czyli w przedziale 100–500 pg/ml. Wielu chorych z BNP w tym przedziale stanowili pacjenci z wywiadem w kierunku niewydolności serca (często z potwierdzoną dysfunkcją skurczową lewej komory), lecz z inną niż sercowa przyczyną aktualnych objawów. Średni poziom BNP dla omawianej podgrupy chorych wynosił bowiem 346 ± 390 pg/ml, podczas gdy 675 ± 450 pg/ml przy ostrej niewydolności serca, zaś 110 ± 225 pg/ml przy niesercowej etiologii objawów. W omawianym przedziale stwierdzono także zwiększony odsetek chorych z zachowaną EF lewej komory, gdyż przy tej postaci niewydolności serca poziom BNP, jakkolwiek podwyższony, nie osiąga zwykle wartości stwierdzanych przy dysfunkcji o charakterze skurczowym [Maisel et al., 2003].

Baza danych z omawianego badania BNP stała się podstawą do serii następných artykułów dotyczących użyteczności diagnostycznej peptydu w szczególnych sytuacjach klinicznych. Analizując wpływ wieku i płci, zaproponowano użycie niezmiennych wartości dolnego progu decyzyjnego (100 pg/ml) u kobiet i mężczyzn niezależnie od wieku wychodząc z założenia, że największym zagrożeniem jest przeoczenie niewydolności serca, podczas gdy rozpoznania fałszywie dodatnie zostaną i tak zweryfikowane podczas hospitalizacji [Maisel et al., 2004a]. Zaproponowano natomiast zróżnicowanie dolnego progu decyzyjnego stężenia BNP w zależności od klirensu endogennej kreatyniny (KKr). Z wartości 70,7 pg/ml dla $KKr > 90$

ml/min./1.73 m² ma on wzrastać do 104,4 pg/ml, 201,2 pg/ml oraz nawet 225,0 pg/ml dla KKr odpowiednio 60–90, 30–60 i 15–30 ml/min./1.73 m² [McCullough et al., 2003a]. Wynika to z akumulacji peptydów natriuretycznych w osoczu przy niewydolności nerek.

Niedawna publikacja wskazuje na rolę otyłości w interpretacji poziomu hormonu w analizowanej grupie chorych z badania BNP. Zaproponowano zróżnicowanie dolnego progu decyzyjnego w zależności wskaźnika masy ciała, od 170 pg/ml dla osób bez otyłości, do 110 pg/ml przy otyłości niewielkiej bądź umiarkowanej, zaś 54 pg/ml przy otyłości dużego stopnia [Daniels et al., 2006]. Uważa się, że zwiększona masa tkanki tłuszczowej sprzyja przyspieszonemu usuwaniu peptydów natriuretycznych z osocza za pośrednictwem receptorów typu C [Silver et al., 2004].

Podnoszono także rolę innych zaburzeń często współistniejących u pacjentów z niewydolnością serca, jak migotanie przedsionków, stabilna dusznica bolesna czy przebyty zawał serca. Podczas gdy przy ostrej niewydolności serca poziom BNP jest zwykle podwyższony w stopniu na tyle dużym, że dodatkowe czynniki nie są zbyt istotne, obecność w/wym. schorzeń towarzyszących może znacząco podwyższać stężenie BNP u chorych z inną niż sercowa przyczyną ostrej duszności [Knudsen et al., 2005; McCord et al., 2005]. W niektórych przypadkach może to powodować podwyższenie poziomu BNP do wartości odpowiadającej wspomnianemu przedziałowi 100–500 pg/ml („szara strefa”), gdy znaczenie diagnostyczne oznaczenia BNP jest ograniczone.

Kolejnym problemem istotnym z punktu widzenia praktyki klinicznej jest weryfikacja podejrzenia niewydolności serca u zgłaszających się z dusznością pacjentów z astmą oskrzelową bądź przewlekłą obturacyjną chorobą płuc (POChP) w wywiadzie. McCullough i wsp. (2003b) wyodrębnili 417 takich osób (dodatkowo z ujemnym wywiadem w kierunku niewydolności serca) w bazie danych badania BNP, stwierdzając wysoką ujemną wartość predykcyjną dolnej wartości granicznej poziomu BNP (97%). Podczas gdy na podstawie obrazu klinicznego wstępne rozpoznanie zostało postawione prawidłowo jedynie u ok. 1/3 spośród 87 w/wym. chorych z ostateczną diagnozą niewydolności serca jako przyczyny ostrej duszności, uzupełnienie zestawu dostępnych informacji o poziom BNP przekraczający 100 pg/ml u pacjentów z niejednoznacznym rozpoznaniem klinicznym zwiększało powyższy odsetek do ponad 90%. U prawie 2/3 powyższych chorych z ostrą niewydolnością serca wstępne rozpoznanie zostało postawione błędnie, co przemawia za wagą omawianego problemu klinicznego. Należy także zaznaczyć, że średni poziom BNP wynosił 587 ± 424 i 109 ± 221 pg/ml odpowiednio przy niewydolności serca jako przyczynie obecnych objawów i w pozostałych

przypadkach. Zatem zaobserwowano tendencję do umiarkowanego podwyższenia poziomu peptydu nawet przy czysto płucnej przyczynie objawów, co obniżało dodatnią wartość predykcyjną wartości odcięcia na poziomie 100 pg/ml (jedynie 51,9%, podczas gdy w całej populacji badania BNP wynosiła ona 79%) przy nadal bardzo wysokiej ujemnej wartości predykcyjnej (97,7%).

W podgrupie 321 chorych z cytowanego badania BNP ciekawą analizę przeprowadzili Morrison i wsp. (2002) jeszcze przed opublikowaniem zasadniczych wyników obejmujących wszystkich 1586 pacjentów. U 54 osób z POChP w wywiadzie, z niewydolnością serca jako przyczyną obecnych ostrych objawów średnie stężenie BNP wynosiło 731 ± 764 pg/ml, podczas gdy jedynie 47 ± 23 pg/ml u pacjentów z niewydolnością serca (i potwierdzoną dysfunkcją lewej komory) w wywiadzie oraz zaostrzeniem POChP odpowiedzialnym za aktualny epizod ostrej duszności. Warto zaznaczyć, że u spośród 54 osób z POChP w wywiadzie i aktualną niewydolnością serca, u 28 osób występowały cechy niewydolności prawokomorowej, zaś stężenie BNP sięgało 669 ± 715 pg/ml, co wskazuje, że najprawdopodobniej prawa komora jest źródłem nadmiernej sekrecji BNP u chorych z zespołem klinicznym tzw. serca płucnego. W głównej publikacji na temat badania BNP u 79% tych chorych klasyfikowano niewydolność serca jako przyczynę ostrej duszności [Maisel et al., 2002].

Znamienną klinicznie interakcję między chorobami płuc a umiarkowanym podwyższeniem poziomu BNP stwierdzono w badaniu REDHOT (*Rapid Emergency Department Heart failure Outpatient Trial*) zaprojektowaną przez autorów badania BNP. Badanie objęło 464 chorych z ostrą dusznością, ostatecznym rozpoznaniem niewydolności serca i wyjściowym poziomem BNP >100 pg/ml. U ok. $\frac{1}{3}$ chorych stężenie BNP nie przekraczało 500 pg/ml, czyli pozostawało we wspomnianej „szarej strefie” [Maisel et al., 2004b]. W stosunku do 210 chorych z BNP >500 pg/ml, u 154 pacjentów z BNP w przedziale 100–500 pg/ml stwierdzono znamiennie wyższy odsetek POChP i astmy oskrzelowej jako chorób towarzyszących [Brenden et al., 2006]. Dodatkowym wynikiem omawianego badania REDHOT było wykazanie związku wyjściowego poziomu BNP z ryzykiem zgonu i powtórnego epizodu zaostrzenia niewydolności serca w obserwacji 90-dniowej, co stwierdzono począwszy już od stężenia peptydu przekraczającego 200 pg/ml, a zatem pozostającego w tzw. „szarej strefie” [Maisel et al., 2004b].

Niezależnie od wcześniej wymienionych zastrzeżeń, algorytm wykorzystania oznaczenia poziomu BNP w postępowaniu z chorym z ostrą dusznością potwierdził swą skuteczność. W

badaniu BASEL (*BNP for Acute Shortness of breath Evaluation*) zarekomendowano uwzględnienie oznaczenia BNP w postępowaniu diagnostyczno-terapeutycznym w sposób następujący: stężenie peptydu poniżej 100 pg/ml stanowiło silną przesłankę na rzecz braku ostrej niewydolności serca, podczas jego poziom ponad 500 pg/ml było mocnym argumentem przemawiającym za sercową etiologią objawów, zaś w przypadku BNP w zakresie 100–500 pg/ml zalecano oparcie się na przesłankach klinicznych i wykonanie dodatkowych badań. Na podstawie zastosowania powyższej strategii u 452 pacjentów z ostrą dusznością stwierdzono, że odsetek chorych wymagających hospitalizacji spadł z 85% do 75% (zaś przyjęć do oddziałów intensywnej terapii z 24% do 15%), średni czas hospitalizacji uległ skróceniu z 11 do 8 dni, co przełożyło się na 26% redukcję kosztów przy podobnej śmiertelności 30-dniowej [Mueller et al., 2004a]. Co warte szczególnego podkreślenia, korzystny efekt ekonomiczny szedł w parze ze zmniejszeniem śmiertelności w obserwacji 6-miesięcznej, przy czym był on najwyraźniej zaznaczony u pacjentów ze schorzeniami współistniejącymi: chorobą niedokrwinną serca bądź chorobami płuc [Mueller et al., 2006].

1.5.1.2. NT-proBNP – badania PRIDE i ICON

W badaniu ICON łącznej analizie poddano 599 chorych uczestniczących w badaniu PRIDE [Januzzi et al., 2005], 205 pacjentów biorących udział w *Christchurch study*, 95 osób spośród *Barcelona study* i 367 pacjentów ze szpitala uniwersyteckiego w Maastricht [Januzzi et al., 2006] Kryteria wykluczające z badania były podobne do zastosowanych we wcześniej przedstawionym badaniu BNP. Oznaczenia NT-proBNP wykonano za pomocą metody immunochemicznej opartej na elektrochemiluminescencji z próbek krwi pobranych przy przyjęciu. W łącznej grupie 1256 chorych zgłaszających się z dusznością do placówki pomocy doraźnej stwierdzono aż 99% ujemną wartość predykcyjną dla poziomu NT-proBNP 300 pg/ml z punktu widzenia wykluczenia niewydolności serca jako przyczyny objawów. Tak wysoka zdolność predykcyjna wynikała z sięgającej 99% czułości oznaczenia NT-proBNP. Natomiast niższa specyficzność (60%) odpowiedzialna była za mniejszą (77%) dodatnią wartość predykcyjną przy progu decyzyjnym na poziomie 300 pg/ml. Wyniki te potwierdziły wnioski uzyskane wcześniej u 600 pacjentów z badania PRIDE, gdzie otrzymano wartości 99% (negatywna wartość predykcyjna), 55% (dodatnia wartość predykcyjna), 99% (czułość) i 62% (specyficzność) [Januzzi et al., 2005]. Powyższa wartość progowa okazała się niezależna od wieku. Natomiast znaczne zróżnicowanie w różnych grupach wiekowych wykazano w przypadku stężenia NT-proBNP pozwalającego na w miarę wiarygodne potwierdzenie

powyższego rozpoznania. Dodatnia wartość predykcyjna poziomu peptydu powyżej 450 pg/ml wynosiła jedynie 76% u chorych w wieku poniżej 50-go roku życia. Warto zaznaczyć, że powyższy wynik uzyskano pomimo wysokich, przekraczających 90% wartości czułości i specyficzności, co wynikało ze znacznie niższego odsetka niewydolności serca jako przyczyny ostrej duszności u młodszych pacjentów. Zatem w tej grupie wiekowej wartość diagnostyczna testu przy progu odcięcia 450 pg/ml nie jest optymalna w aspekcie potwierdzenia rozpoznania (utrzymuje się natomiast wysoka (99%) ujemna wartość predykcyjna, podobnie jak dla 300 pg/ml), rośnie ona jednak dla starszych pacjentów stanowiących zdecydowaną większość zgłaszających się chorych. Analogiczne progi odcięcia oszacowano bowiem na 900 pg/ml i 1800 pg/ml dla chorych w wieku 50–75 lat i >75 lat z pozytywną wartością predykcyjną odpowiednio 83% (czułość 90%, specyficzność 82%) i 92% (czułość 85%, specyficzność 73%) [Januzzi et al., 2006]. W porównaniu z badaniem PRIDE łączna analiza pacjentów w badaniu ICON przyniosła więc dodatkowy próg decyzyjny dla poziomu NT-proBNP dla chorych w wieku starszym niż 75 lat. Biorąc pod uwagę charakterystykę demograficzną pacjentów zgłaszających się na izbę przyjęć bądź wzywających pogotowie ratunkowe, uwzględnienie w przedstawionej analizie osób w wieku podeszłym ma fundamentalne znaczenie kliniczne.

W omawianym opracowaniu poddano analizie także związek NT-proBNP z frakcją wyrzutową lewej komory (EF), którą zmierzono za pomocą echokardiografii u 655 na 720 chorych z ostrą niewydolnością serca. Jakkolwiek statystycznie znamienne, odwrotna korelacja między NT-proBNP a EF nie była zbyt silna. Przyjmując definicję dysfunkcji skurczowej lewej komory jako $EF < 50\%$, stwierdzono ok. 2-krotnie wyższe mediany stężeń NT-proBNP dla ostrej niewydolności serca z upośledzoną czynnością skurczową lewej komory w stosunku do chorych z zachowaną jej kurczliwością globalną, którzy stanowili aż 45% pacjentów z rozpoznaniem niewydolności serca i znaną wartością EF. Jednakże w obu przypadkach przekraczały one zdecydowanie podane wcześniej wartości progowe, osiągając odpowiednio 6536 (przedział międzykwartyłowy 2777–13407 pg/ml) i 3070 pg/ml (1344–7974 pg/ml), co powodowało jedynie nieco mniejszą czułość górnego progu decyzyjnego poziomu NT-proBNP dla potwierdzenia rozpoznania niewydolności serca przy (84% dla $EF \geq 50\%$ vs. 92% dla $EF < 50\%$), przy czym jedynie u 2,4% chorych z niewydolnością serca i $EF \geq 50\%$ jego poziom spadał poniżej dolnego progu decyzyjnego, czyli 300 pg/ml. Zatem użyteczność kliniczna oznaczenia nie zależała od obecności współistniejącej dysfunkcji skurczowej lewej komory. Podobnie autorzy nie stwierdzili potrzeby różnicowania optymalnych wartości odcięcia w zależności od płci. Wprawdzie u kobiet bez niewydolności serca stwierdzono tendencję do

wyższego poziomu NT-proBNP, jednak poziomy peptydu były porównywalne u chorych z rozpoznaniem niewydolności. Należy zaznaczyć, że wyjściowe stężenie NT-proBNP, powyżej którego stwierdzono znamienne zwiększenie śmiertelności w okresie 76 dni, sytuował się na jeszcze wyższym poziomie – 5180 pg/ml [Januzzi et al., 2006].

Zatem istnieją silne przesłanki na rzecz potencjalnej użyteczności zarówno BNP, jak i NT-proBNP w postępowaniu z chorymi z podejrzeniem niewydolności serca jako przyczyny ostrej duszności. Znalazło to odzwierciedlenie w aktualnych (2005) zaleceniach Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego na temat ostrej niewydolności serca [Niemenen et al., 2005]. W rekomendacjach tych eksperci umieścili BNP obok tak podstawowych badań jak EKG i RTG klatki piersiowej w drugim kroku proponowanego algorytmu postępowania diagnostycznego.

1.5.1.3. Tzw. „szara strefa” stężenia BNP/NT-proBNP

Problemem pozostaje wielokrotnie wspomniana uprzednio tzw. „szara strefa” stężenia peptydów natriuretycznych, gdy mieszczą się one między dolną wartością progową (pomocną w wykluczeniu niewydolności serca) a górną wartością progową (użyteczną w potwierdzeniu rozpoznania) [Maisel, 2006]. Warto podkreślić, że w w/wym. przedziale (od 300 pg/ml do 450–1800 pg/ml w zależności od wieku) mieściło się jedynie 16% chorych w badaniu ICON z NT-proBNP, podczas gdy wynosił on aż 26% w przypadku analogicznego przedziału wynoszącego 100–500 pg/ml dla BNP w badaniu wieloośrodkowym [McCullough et al., 2002] dotyczącym (zgodnie z akronimem nazwy) właśnie BNP, nie zaś fragmentu jego prohormonu. W/wym. „szara strefa” ogranicza użyteczność diagnostyczną oznaczenia BNP i NT-proBNP, przy czym oba peptydy wykazują podobną precyzję diagnostyczną u chorych z ostrą dusznością [Lainchbury et al., 2003; Mueller et al., 2005]. Po stwierdzeniu poziomów BNP/NT-proBNP w omawianym zakresie należy dokonać szczegółowej analizy obrazu klinicznego, a także zaplanować badania dodatkowe, biorąc pod uwagę także inne niż niewydolność serca przyczyny podwyższenia stężenia peptydów natriuretycznych, co omówiono szczegółowo wcześniej. Reasumując, wśród przyczyn umiarkowanego podwyższenia poziomu BNP i NT-proBNP wymienia się: podeszły wiek, niewydolność nerek, ostrą zatorowość płucną, nadciśnienie płucne niezależnie od przyczyny, wady zastawkowe serca, migotanie przedsionków [Maisel, 2006]. Ponadto u chorych bez ostrej niewydolności serca współistniejąca dysfunkcja lewej komory (tak skurczowa jak i rozkurczowa) podwyższa poziom peptydów natriuretycznych, jednak w stopniu mniejszej niż u pacjentów z sercową

przyczyną ostrych objawów. Izolowana dysfunkcja rozkurczowa lewej komory często towarzyszy przerostowi mięśnia lewej komory serca, zwykle z powodu nadciśnienia tętniczego. Poziomy peptydów rosną także przy przewodnieniu oraz w sepsie. W tym ostatnim przypadku czynnikiem odpowiedzialnym jest indukcja ekspresji genu dla BNP przez endotoksynę [McCullough, 2004], ale także towarzyszące często sepsie niewydolność nerek i dysfunkcja serca.

Należy podkreślić, że u chorych w starszym wieku poziomy BNP/NT-proBNP są zwykle podwyższone, co wynika z częstego współistnienia dysfunkcji nerek i innych schorzeń towarzyszących prowadzących do podwyższenia stężeń BNP/NT-proBNP. Ray i wsp. (2005), którzy analizowali dane chorych w wieku ≥ 65 lat (średnia wieku 80 ± 9 lat) zgłaszających się z ostrą dusznością do szpitalnego oddziału pomocy doraźnej, stwierdzili, że precyzja diagnostyczna oznaczenia NT-proBNP była nieco wyższa niż BNP w tej grupie wiekowej w aspekcie rozpoznania sercowej przyczyny objawów.

W omawianych wcześniej badaniach wielośrodkowych praktycznie wykluczono pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi. Wiadomo jednak, że nie można ich pominąć przy diagnostyce różnicowej ostrej duszności. Ostre zespoły wieńcowe często przebiegają z podwyższonymi stężeniami BNP i NT-proBNP, co rozwinięto szczegółowo w podrozdziale 1.5.5 niniejszej rozprawy. Ponadto podwyższony poziom BNP i NT-proBNP obserwowano u chorych ze stabilną chorobą wieńcową i dodatnimi wynikami testów nieinwazyjnych prowokujących niedokrwienie mięśnia serca, co rozwinięto w podrozdziale 5.1.

Wreszcie należy wspomnieć o sytuacjach klinicznych, gdy poziom BNP lub NT-proBNP nie jest podwyższony w stopniu, którego można by się spodziewać z uwagi na obecną ostrą niewydolność serca. Może to wystąpić przy pobraniu krwi na oznaczenie peptydu po upływie zbyt krótkiego czasu od początku objawów (< 2 h) [Logeart et al., 2002], przy ostrej niedomykalności mitralnej [Silver et al., 2004], a także w znacznej otyłości [Daniels et al., 2006].

1.5.2. Chorzy z ostrą dusznością pochodzenia sercowego – oznaczenie BNP/NT-proBNP przed wypisem ze szpitala

Logeart i wsp. (2004) stwierdzili, że poziom BNP przed wypisem ze szpitala wiąże się ze znamienymi różnicami w ryzyku zgonu lub zaostrzenia niewydolności serca w obserwacji 6-miesięcznej. W porównaniu ze stężeniem BNP < 350 pg/ml, powyższy odsetek wzrastał ok. 5-krotnie przy BNP w przedziale 350–700 pg/ml, zaś nawet ponad 15-krotnie dla BNP > 700

pg/ml. Verdiani i wsp. (2005) stwierdzili odsetek ponownych hospitalizacji w ciągu 30 dni na poziomie aż 56% przy stężeniu BNP przy wypisie >696 pg/ml, podczas gdy wynosił on jedynie 4% u chorych z BNP poniżej tej wartości.

W przypadku NT-proBNP Bettencourt i wsp. (2004) wykazali wartość prognostyczną poziomu peptydu przed wypisem (zaś nie przy przyjęciu), przy czym największy wpływ na rokowanie w okresie 6 miesięcy miały zmiany stężenia NT-proBNP podczas hospitalizacji. Najniższe ryzyko zgonu lub ponownej hospitalizacji stwierdzono u pacjentów, u których stężenie NT-proBNP spadło o $\geq 30\%$ w trakcie pobytu w szpitalu. Ryzyko powyższe wzrastało ok. 2-krotnie przy wewnątrzszpitalnych wahaniami poziomu peptydu o $< 30\%$, zaś aż ok. 6-krotnie u pacjentów, u których stężenie NT-proBNP uległo podwyższeniu o $\geq 30\%$ przed wypisem ze szpitala w porównaniu z wartością zmierzoną przy przyjęciu. Na konieczność osiągnięcia co najmniej 30% spadku poziomu BNP w trakcie przywracania stanu wyrównania krążenia dla poprawy rokowania wskazują także prace innych autorów [Bayes-Genis et al., 2005].

1.5.3. Chorzy z przewlekłą niewydolnością serca – rola oznaczenia BNP/NT-proBNP w stratyfikacji ryzyka i monitorowaniu leczenia

Początek XXI wieku przyniósł szereg prac wskazujących na związek poziomu peptydów natriuretycznych typu B z rokowaniem w przewlekłej niewydolności serca [Koglin et al., 2001; Berger et al., 2002]. Berger i wsp. (2002) przebadali 452 ambulatoryjnych chorych z przewlekłą niewydolnością serca łagodną do umiarkowanej (NYHA I–II) i EF<35%. W ciągu ok. 1,5-roczej obserwacji wykazali znamienne wyższe ryzyko nagłej śmierci sercowej przy stężeniu peptydu przekraczającym wartość mediany (130 pg/ml) (19%) względem pozostałych chorych (1%). Anand i wsp. (2003) przeprowadzili analizę grupy 3916 stabilnych chorych z przewlekłą niewydolnością serca i EF<35% uczestniczących w badaniu Val-HeFT (*Valsartan Heart Failure Trial*). W kolejnych kwartylach wyjściowego poziomu BNP (<41, 41–97, 98–238 i >238 pg/ml) śmiertelność po ok. 30 miesiącach wynosiła odpowiednio 9,7, 14,3, 20,7 i 32,4%. Zależność ta była obecna pomimo, że u ok. 1/2 chorych stężenie BNP u stabilnych leczonych chorych z przewlekłą niewydolności serca nie przekraczało 100 pg/ml. Ponadto wykazano związek ryzyka zgonu ze zmianami poziomu peptydu w ciągu poprzedzających kilku miesięcy. W kolejnej publikacji cytowanej grupy badaczy zasugerowano wyższość

oznaczenia NT-proBNP nad BNP z punktu widzenia wartości rokowniczej [Masson et al., 2006].

Troughton i wsp. (2000) zrandomizowali 69 stabilnych chorych z przewlekłą niewydolnością serca i EF<40% do grupy, w której intensywność standardowej farmakoterapii wyznaczano na podstawie oznaczenia NT-proBNP (poziom docelowy <200 pmol/l, czyli poniżej ok. 1700 pg/ml) i do grupy kontrolnej, w której optymalizację leczenia oparto jedynie na przesłankach klinicznych. Stwierdzono mniejszy odsetek zgonów lub epizodów zaostrzeń niewydolności serca w pierwszej grupie (27%) w porównaniu z grupą kontrolną (53%) w ciągu średnio 9,5-miesięcznej obserwacji. Za różnicę między badanymi grupami odpowiedzialne były najprawdopodobniej wyższe dawki inhibitorów konwertazy angiotensyny i diuretyków oraz dodatkowe stosowanie antagonistów aldosteronu.

W badaniu STAR-BNP Jourdain i wsp. (2007) zrandomizowali 220 chorych z przewlekłą niewydolnością serca i dysfunkcją skurczową lewej komory na optymalnej terapii i w stabilnym stanie klinicznym do grupy z docelowym poziomem BNP<100 pg/ml i grupy kontrolnej. W ciągu średnio 15-miesięcznej obserwacji stwierdzono znamiennej redukcję (o ok. 54%) ryzyka kombinowanego punktu końcowego zdefiniowanego jako zgon, transplantacja serca ze wskazań pilnych bądź hospitalizacja związana z zaostrzeniem niewydolności serca. Wśród chorych, u których leczenie uzależniono od stężenia BNP („BNP-guided therapy”), jedynie w ¼ przypadków modyfikacje terapii wynikały z przesłanek klinicznych, pozostałe ¾ związane były ze zbyt wysokim poziomem peptydu. Z drugiej strony jednak należy pamiętać, że wyznaczony docelowy poziom BNP był bardzo niski i osiągnięto go jedynie u 40% chorych po pierwszych 3 miesiącach. Ponadto spadkowi odsetka hospitalizacji, spowodowanych zaostrzeniem niewydolności serca, towarzyszyły częstsze pobyty w szpitalu, związane z innymi przyczynami, wtórnymi do bardziej agresywnego leczenia, jak hipotonia, hipowolemia i niewydolność nerek [Mueller et al., 2007].

Ponadto wydaje się, że stopień spadku poziomu peptydów natriuretycznych typu B jest nie tylko wykładnikiem optymalizacji farmakoterapii niewydolności serca, ale także może wskazywać na korzystne efekty hemodynamiczne terapii resynchronizacyjnej [Yu et al., 2005].

1.5.4. Chorzy z objawami wskazującymi na przewlekłą niewydolność serca i pacjenci bezobjawowi – oznaczenie BNP/NT-proBNP jako badanie przesiewowe

Silver i wsp. (2004) zaproponowali algorytm diagnostyczny, w którym została wykorzystana wysoka ujemna wartość predykcyjna niskiego poziomu BNP dla wykluczenia z wysokim prawdopodobieństwem dysfunkcji skurczowej lewej komory. Dla pacjentów bezobjawowych oszacowano graniczny poziom BNP na poziomie 20 pg/ml, zaś przy objawach nasuwających podejrzenie niewydolności serca wyższą wartość – 40 pg/ml. Podstawą teoretyczną, leżącą u podstawy w/wym. algorytmu była chęć eliminacji niepotrzebnych i kosztownych badań echokardiograficznych. W związku z faktem, że liczne stany wiążą się z umiarkowanym podwyższeniem poziomu BNP (co rozwinięto w podrozdziale 1.5.1.3), w przypadku stężeń BNP przekraczających w/wym. progi graniczne, zalecano dalszą diagnostykę, w tym wykonanie echokardiografii. Jednakże badania populacyjne nie potwierdziły jednoznacznie początkowego optymizmu. Wprawdzie w roku 1998 zaproponowano 17,9 pg/ml jako graniczny poziom BNP dla wykluczenia dysfunkcji lewej komory po przebadaniu 1252 osób z Glasgow i okolic [McDonagh et al., 1998], jednak na niedostateczną dokładność testu wskazywały późniejsze analizy na liczniejszej grupie 3177 osób uczestniczących w badaniu *Framingham Heart Study* [Vasan et al., 2002] oraz 2042 osób objętych *Rochester Epidemiology Project* [Redfield et al., 2004]. Z drugiej strony bardziej obiecujące wyniki przyniosła metaanaliza 3 europejskich badań epidemiologicznych obejmujących łącznie 3051 osób [McDonagh et al., 2004]. Jako użyteczne w wykrywaniu dysfunkcji skurczowej lewej komory zaproponowano wartości odcięcia poziomu NT-proBNP 49 i 88 pg/ml dla mężczyzn i kobiet poniżej 70-go roku życia oraz odpowiednio 67 i 123 pg/ml dla osób w wieku ≥ 70 lat. Natomiast Ng i wsp. (2005) stwierdzili 99,8% negatywną wartość predykcyjną w tym aspekcie dla poziomu NT-proBNP ok. 225 pg/ml w populacji ogólnej w wieku 45–80 lat, w tym także u osób z chorobą wieńcową lub nadciśnieniem tętniczym w wywiadzie. Z kolei Groenning i wsp. (2004) zaproponowali graniczne stężenie NT-proBNP 41,5 pmol/l (ok. 357 pg/ml) dla populacji ogólnej w wieku 50–90 lat z ujemną wartością predykcyjną 94%. Niemniej jednak warto nadmienić, że w polskich realiach koszt oznaczenia peptydu przewyższa koszt badania echokardiograficznego, co podważa sens opisywanej strategii.

Bardziej obiecująca wydaje się ocena peptydów natriuretycznych przy obecności objawów mogących wskazywać na przewlekłą niewydolność serca. Znaczącym ograniczeniem jest brak pewnych wartości referencyjnych oraz ich zróżnicowanie w licznych publikacjach. Zaphiriou i wsp. (2005) oraz Gustafsson i wsp. (2005) stwierdzili wysoką (97–100%) negatywną wartość predykcyjną poziomu NT-proBNP < 125 pg/ml dla wykluczenia u w/wym. pacjentów dysfunkcji skurczowej lewej komory. Aktualne zalecenia Europejskiego

Towarzystwa Kardiologicznego na temat przewlekłej niewydolności serca kładą nacisk na wysokie prawdopodobieństwo wykluczenia niewydolności serca jako przyczyny objawów u nie leczonych chorych ambulatoryjnych przy prawidłowym poziomie BNP/NT-proBNP [Swedberg et al., 2005]. Natomiast Luchner i wsp. (2005b) stwierdzili znaczny rozrzut optymalnego poziomu granicznego stężenia NT-proBNP u chorych po przeżytym zawałe serca dla wyodrębnienia podgrupy z dysfunkcją skurczową lewej komory. Mianowicie u pacjentów z objawami próg ten był ponad 2-krotnie wyższy (348 pg/ml) w porównaniu z chorymi bezobjawowymi (157 pg/ml) przy ujemnej wartości predykcyjnej 97–98%.

1.5.5. Chorzy z ostrymi zespołami wieńcowymi

Wzrost stężenia peptydów natriuretycznych w osoczu krwi jest jednym z elementów odpowiedzi ustroju na ostre niedokrwienie mięśnia serca. Na podstawie stopnia podwyższenia ich stężenia w ostrych zespołach wieńcowych można oszacować ryzyko zgonu, ponownego zawału oraz rozwoju niewydolności serca. Z tego powodu w wielu badaniach oceniano możliwość zastosowania sercowych peptydów natriuretycznych jako markerów diagnostycznych i prognostycznych w ostrych zespołach wieńcowych.

BNP jest wydzielany bezpośrednio po jego zsyntezowaniu przez kardiomiocyty komór i nie mają one możliwości gromadzenia jego znaczących ilości. Sugeruje to, że tylko niewielka ilość BNP uwolni się w wyniku martwicy komórek w ognisku zawałowym, natomiast wielokrotny wzrost poziomu BNP już we wczesnym okresie zawału serca wynika w głównej mierze z innych czynników. BNP może być wydzielany przez kardiomiocyty w okresie przedłużającego się niedokrwienia poprzedzającego rozwój martwicy, przez narażone na niedokrwienie kardiomiocyty otaczające ognisko zawałowe, oraz kardiomiocyty w pozostałych rejonach lewej komory, gdy dochodzi do jej dysfunkcji i wzrostu naprężenia ściany. Najprawdopodobniej niedokrwienie może nasilać sekrecję BNP także w sposób niezależny od zmian hemodynamicznych, co szerzej rozwinięto w podrozdziale 5.1. W szczurzym modelu zawału serca ekspresja mRNA dla BNP oraz intensywność wybarwienia po zastosowaniu metody immunohistochemicznej z użyciem przeciwciał anty-BNP okazały się najintensywniejsze w przetrwałych kardiomiocytach w ognisku zawałowym i w jego otoczeniu, ale także pojawiały się w one znacznym nasileniu w odległych od strefy zawału obszarach *myocardium* lewej komory [Hama et al., 1995].

Stężenia BNP charakteryzują się dużą zmiennością w ostrym zawałe mięśnia serca przebiegającym z utrzymującym się przez ≥ 30 min. uniesieniem odcinka ST. Pierwsze maksimum poziomu peptydu pojawia się wówczas w ciągu pierwszych 24 h (średnio 16 h od przyjęcia do szpitala), zaś drugie może wystąpić ponadto ok. 5-tej doby [Morita et al., 1993]. W przypadku NT-proBNP powyższy dwufazowy charakter krzywej stężenia peptydu stwierdzono w zawałe ściany przedniej w przeciwieństwie do zawału ściany dolnej, co związane było z większym nasileniem zaburzeń hemodynamicznych w pierwszym przypadku [Talwar et al., 2000b]. Cytowani autorzy stwierdzili w zawałe ściany przedniej ponowny wzrost poziomu NT-proBNP ok. 5-tej doby zawału, który utrzymywał się następnie podczas obserwacji (średnio ok. 6 tygodni), osiągając wartości nieco przekraczające wartość z pierwszych 14–48 godzin. Natomiast nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic w zależności od czasu oznaczenia u chorych z zawałem ściany dolnej, jakkolwiek najwyższe wartości zmierzono w pierwszych 2 dobach, jednak były one średnio 4-krotnie niższe niż odpowiedni poziom w zawałe ściany przedniej [Talwar et al., 2000b].

U 90 kolejnych chorych z ostrymi zespołami wieńcowymi bez niewydolności nerek ani niewydolności serca Ogawa i wsp. (2006) zaobserwowali, że w ciągu pierwszych 6 h (ale nie w okresie 6–12 h) od początku objawów poziom krążącego NT-proBNP był znamienne wyższy (w pierwszych 3 h prawie 20-krotnie) w ostrych zespołach wieńcowych bez utrzymującego się uniesienia odcinka ST w porównaniu z ostrymi zespołami wieńcowymi z uniesieniem odcinka ST. Zależność ta kształtowałaby się odwrotnie, gdyby głównym mechanizmem wzrostu stężenia peptydu we wczesnym okresie było jego uwolnienie z ulegających martwicy kardiomiocytów. Podobną różnicę stwierdzili Galvani i wsp. (2004b) w grupie 1756 chorych z ostrymi zespołami wieńcowymi (w tym 35% z uniesieniem odcinka ST), u których mediana czasu od pierwszych objawów do pobrania krwi celem oznaczenia NT-proBNP wynosiła ok. 3 h. U pacjentów z utrzymującym się uniesieniem odcinka ST mediana stężenia peptydu wynosiła 201 pg/ml, zaś przy braku tego uniesienia 506 pg/ml. Z kolei badacze skandynawscy [Omland et al., 2002] stwierdzili odwrotną zależność w grupie 609 chorych z ostrymi zespołami wieńcowymi, gdy mediana czasu od początku objawów do pobrania próbki krwi na oznaczenie NT-proBNP wynosiła 3 dni. W porównaniu do 185 chorych z niestabilną dusznicą bolesną mediana poziomu NT-proBNP okazała się 3,5-krotnie wyższa u 220 pacjentów z zawałem przebiegającym bez utrzymującego się uniesienia odcinka ST, zaś aż ok. 6-krotnie wyższa u 204 osób z zawałem z uniesieniem odcinka ST [Omland et al., 2002]. Wydaje się zatem, że pierwszych godzinach ostrego zespołu wieńcowego wysokie stężenie peptydów

natriuretycznych typu B (nawet przy braku znacznego uszkodzenia lewej komory) może odzwierciedlać wzmożoną ekspresję genu dla BNP w niedokrwionym *myocardium*, zaś ponowny wzrost poziomu peptydów po kilku dniach jest wyrazem rozwijającej się dysfunkcji komory.

W cytowanym powyżej badaniu NT-proBNP był niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu w ok. 4-letniej obserwacji niezależnie od typu ostrego zespołu wieńcowego, wartości EF, obecności objawów niewydolności serca oraz zastosowania leczenia fibrynolitycznego, angioplastyki bądź rewaskularyzacji chirurgicznej podczas hospitalizacji [Omland et al., 2002]. W analizie wieloczynnikowej znamienność statystyczna w/wym. zależności uległa jedynie nieznacznemu złagodzeniu po uwzględnieniu poprawki na pozostałe parametry obecne w końcowym modelu regresji, czyli wiek, EF i objawy niewydolności serca. Omawiana praca stanowi rozwinięcie wcześniejszej publikacji badaczy skandynawskich, którzy już w 1996 roku wykazali, że w analizie wieloczynnikowej jedynie BNP (nie zaś ANP) zmierzony w 3 dobie zawału utrzymał niezależny efekt prognostyczny w aspekcie śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych podczas ponad 3-letniej obserwacji u 131 chorych spośród pacjentów uczestniczących w badaniu CONSENSUS II (*COoperative New Scandinavian ENalapril SURvival Study*) [Omland et al., 1996].

Badacze włoscy [Galvani et al., 2004b] przeprowadzili badanie wielośrodkowe EMAI (*Early prognostic value of biochemical markers of Myocardial damage, Activation of hemostatic mechanism and Inflammation in acute ischemic syndromes study*) obejmujące 1756 chorych ze spoczynkowym bólem w okresie 24 godzin przed przyjęciem do szpitala i niedokrwienymi zmianami krzywej EKG (w 35% z ostatecznym rozpoznaniem zawału z utrzymującym się uniesieniem odcinka ST). Bez względu na typ ostrego zespołu wieńcowego oraz zastosowanie leczenia trombolitycznego lub rewaskularyzacji poziom NT-proBNP zmierzony średnio 3 h od początku objawów był niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu w ciągu 30 dni także po uwzględnieniu wieku, parametrów klinicznych (w tym objawów niewydolności serca) i poziomu troponiny. Znamienny stopniowy wzrost śmiertelności obserwowano już przy stężeniu NT-proBNP przekraczającym pierwszy kwartył, czyli powyżej 107 pg/ml, w tym również u pacjentów bez podwyższenia poziomu troponiny lub objawów niewydolności serca; natomiast nie stwierdzono takiej zależności w przypadku ryzyka ponownego zawału. Włoska grupa badawcza opublikowała także metaanalizę obejmującą 5 badań i 12 474 pacjentów, w której dowiedziono, że efekt prognostyczny peptydów natriuretycznych jest niezależny nie tylko od rodzaju ostrego zespołu wieńcowego, ale także

rodzaju mierzonego peptydu typu B (BNP a NT-proBNP), czasu od początku objawów (3–10 h a 2–3 doby) oraz okresu obserwacji całkowitej śmiertelności (2–30 dni a 10–51 miesięcy) [Galvani et al., 2004a na podstawie: de Lemos et al., 2001; Omland et al., 2002; Jernberg et al., 2002; James et al., 2003; Galvani et al., 2004b]. Natomiast Suzuki i wsp. (2004) oceniali przydatność późnego oznaczania stężenia BNP, czyli w 3–4 tygodniu zawału u 145 kolejnych chorych obserwowanych następnie przez średnio ok. 5 lat. BNP okazał się także w tym przypadku czynnikiem ryzyka zgonu z przyczyn sercowych w sposób niezależny od EF oraz objawów niewydolności serca, zaś optymalna wartość odcięcia wynosiła 180 pg/ml.

W pracy de Lemos i wsp. (2001) stężenie BNP zmierzono średnio 40 h od początku objawów u 2525 pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowym biorących udział w badaniu OPUS-TIMI16 (*Orofiban in Patients with Unstable coronary Syndromes-Thrombolysis In Myocardial Infarction*). Jedynie u ¼ chorych poziom BNP przekraczał 137 pg/ml, jednak już począwszy od 80 pg/ml wyjściowe stężenie BNP znamienne korelowało z ryzykiem zgonu, zawału serca oraz epizodu zaostrzenia niewydolności serca w obserwacji 10-miesięcznej. Efekt ten był niezależny od obecności utrzymującego się uniesienia odcinka ST, biochemicznych markerów martwicy *myocardium* oraz objawów niewydolności serca.

Kikuta i wsp. (1996) wykazali spadek podwyższonego poziomu BNP w niestabilnej dusznicy bolesnej po stabilizacji stanu chorego w wyniku farmakoterapii (przy braku zmian stężenia ANP), zaś Morrow i wsp. (2005b) dowiedli znaczenia prognostycznego nie tylko pojedynczego oznaczenia BNP, ale także jego zmian podczas obserwacji u chorych po przebyciu ostrych zespołów wieńcowych zarówno z uniesieniem odcinka ST, jak i bez tego uniesienia. Waga omawianego badania polega na stwierdzeniu użyteczności obu oznaczeń: bezpośrednio przed wypisem ze szpitala w trakcie hospitalizacji z powodu ostrego zespołu wieńcowego oraz po 4 miesiącach. Najwyższym ryzykiem zgonu bądź zaostrzenia niewydolności serca obciążeni byli chorzy, u których poziom BNP albo przekraczał 80 pg/ml w obu pomiarach, albo wprawdzie był niższy w pierwszym oznaczeniu, jednak wzrósł powyżej 80 pg/ml po 4 miesiącach. Natomiast pacjenci, u których w powyższym okresie nastąpił spadek stężenia BNP poniżej 80 pg/ml wykazywali jedynie nieznacznie podwyższone ryzyko w porównaniu do grupy z niskim poziomem peptydu w obu oznaczeniach.

Z kolei Heeschen i wsp. (2004) dowiedli znaczenia zmian poziomu NT-proBNP w ciągu pierwszych 72 h od przyjęcia do szpitala u 1791 chorych z ostrymi zespołami wieńcowymi bez uniesienia odcinka ST uczestniczących w badaniu PRISM (*Platelet Receptor Inhibition In Ischemic Syndrome Management*). Nie tylko wyjściowe podwyższenie NT-proBNP ponad 250

pg/ml, ale także jego zmiany w ciągu 48–72 h wpływały na ryzyko zawału serca bądź zgonu w ciągu 30 dni. Ponadto u chorych troponino-negatywnych podwyższenie wyjściowego poziomu NT-proBNP ponad 250 pg/ml wiązało się z ryzykiem zgonu bądź zawału serca nie zakończonego zgonem w obserwacji 30-dniowej porównywalnym z chorymi troponino-dodatnimi.

W ostrych zespołach wieńcowych bez uniesienia odcinka ST Jernberg i wsp. (2004) stwierdzili niezależny i stopniowy wzrost krótko- i długoterminowego ryzyka zgonu już począwszy od wyjściowego poziomu NT-proBNP przekraczającego pierwszy kwartył, czyli 237 pg/ml w badaniu GUSTO-IV (*Global Utilization of Strategies to Open occluded arteries*) oraz 113 pg/ml w badaniu FAST (*Fast Assessment in Thoracic pain*). Ponadto Jernberg i wsp. (2003) poddali analizie 2019 chorych z ostrymi zespołami wieńcowymi bez uniesienia odcinka ST uczestniczących w badaniu FRISC-II (*FRagmin and fast revascularization during Instability in Coronary artery disease*). Jedynie u chorych z podwyższonymi wartościami zarówno NT-proBNP (≥ 906 pg/ml u mężczyzn i ≥ 1345 pg/ml u kobiet), jak i interleukiny 6 (≥ 5 pg/ml) oznaczanymi średnio 39 h od ostatniego epizodu niedokrwienia, wczesna strategia inwazyjna obniżała znamienne ryzyko zgonu w ciągu 2 lat obserwacji. Natomiast w/wym. parametry nie były niezależnymi czynnikami ryzyka powtórnego zawału, którego jedynym czynnikiem ryzyka było podwyższenie troponiny. Cytowane badanie wskazuje zatem na komplementarność markerów biochemicznych różnego typu dla oceny odmiennych aspektów ryzyka sercowo-naczyniowego [Sabatine et al., 2002]. Natomiast nie zostało rozstrzygnięte zagadnienie ewentualnej użyteczności peptydów natriuretycznych w kwalifikacji do wczesnego leczenia inwazyjnego w ostrych zespołach wieńcowych bez uniesienia odcinka ST. Jakkolwiek Morrow i wsp. (2003) stwierdzili niezależny związek wyjściowego poziomu BNP >80 pg/ml ze śmiertelnością 7-dniową i 6-miesięczną u 1676 chorych uczestniczących w badaniu TACTICS-TIMI 18 (*Treat Angina with Aggrastat and determine Cost of Therapy with an Invasive or Conservative Strategy- Thrombolysis In Myocardial Infarction*), to jednak nie zauważono znamiennej interakcji między stężeniem peptydu a wpływem leczenia inwazyjnego na rokowanie. Ponadto omawiane badanie dowiodło wartości prognostycznej BNP także u chorych troponino-ujemnych [Morrow et al., 2003], a także związku podwyższenia poziomu peptydu z bardziej ciasnym zwężeniem tętnicy odpowiedzialnej za ostry zespół wieńcowy bez uniesienia odcinka ST oraz z wolniejszym przepływem kontrastu w koronarografii [Sadanandan et al., 2004]

1.5.6. BNP/NT-proBNP a inne choroby układu sercowo-naczyniowego

1.5.6.1. Wady zastawkowe serca i migotanie przedsionków

Stenoza mitralna przebiega z niewielkiego stopnia podwyższeniem poziomu BNP, który koreluje z ciśnieniem w lewym przedsionku i w tętnicy płucnej [Shang et al., 2005]. Do nadmiernej sekrecji peptydu może także przyczyniać się migotanie przedsionków często towarzyszące tej wadzie. Tzw. izolowane migotanie przedsionków jest niezależnym czynnikiem zwiększającym wyrzut BNP nawet gdy nie przebiega z szybkim rytmem komór [Jourdain et al., 2002]. Na wpływ migotania przedsionków na sekrecję BNP wskazuje także spadek stężenia peptydu po przywróceniu rytmu zatokowego za pomocą kardiowersji elektrycznej niezależnie od obecności i charakteru zaburzeń towarzyszących [Inoue et al., 2000; Ohta et al., 2001; Jourdain et al., 2002]. Redukcję poziomu BNP obserwowano także po przezskórnej walwuloplastyce balonowej w stenozie mitralnej [Shang et al., 2005], co sugeruje, że u chorych ze zwężeniem lewego ujścia żylnego oraz w migotaniu przedsionków źródłem nadmiernego wydzielania BNP jest lewy przedsionek, która ściana ulega rozciągnięciu przez podwyższone ciśnienie. W przypadku izolowanego migotania przedsionków zostało to potwierdzone przez autorów japońskich, którzy porównali stężenia peptydu w krwi pobranej z aorty, zatoki wieńcowej i żyły międzykomorowej przedniej serca [Inoue et al., 2000].

Sutton i wsp. (2003) mierzyli stężenie BNP u 49 pacjentów z izolowaną organiczną niedomykalnością zastawki mitralnej i zachowaną kurczliwością lewej komory ($EF > 55\%$; średnio $63 \pm 5\%$). W stosunku do grupy kontrolnej osób zdrowych (średnia ok. $18,3 \text{ pg/ml}$), poziom peptydu był jedynie w niewielkim stopniu podwyższony (o ok. $\frac{1}{3}$, do ok. $24,6 \text{ pg/ml}$) u chorych bezobjawowych, zaś bardziej znaczący wzrost (ok. 3-krotny, do ok. $58,5 \text{ pg/ml}$) zaobserwowano u pacjentów z upośledzeniem tolerancji wysiłku. Ponadto stwierdzono związek BNP z echokardiograficznymi parametrami odzwierciedlającymi nasilenie niedomykalności oraz z wymiarem lewego przedsionka. Natomiast niedawna publikacja polskich autorów wskazuje, że podwyższenie poziomu BNP (144 ± 24 vs $7 \pm 2 \text{ pg/ml}$ w grupie kontrolnej) w ciężkiej organicznej niedomykalności mitralnej z przemodelowaniem lewej komory (średnia $EF: 57 \pm 2\%$, w większości w III klasie wg NYHA) może odzwierciedlać spadek ekspresji ATP-azy wapniowej siateczki śródplazmatycznej kardiomiocytów, co uważa się za jeden z mechanizmów wiodących do dysfunkcji skurczowej lewej komory w tej wadzie [Leszek et al., 2007].

Mayer i wsp. (2004) zmierzili stężenie BNP u 201 chorych z objawami niewydolności serca (EF: $37 \pm 17\%$), w większości na tle choroby niedokrwiennej serca. Cytowani autorzy stwierdzili, że poziomy peptydu podwyższone były do średnio 835 pg/ml u chorych z czynnościową niedomykalnością mitralną łagodną do umiarkowanej, zaś 953 pg/ml przy niedomykalności dużego stopnia w stosunku do chorych bez niedomykalności (średnia 719 pg/ml). Poza nasileniem niedomykalności drugim niezależnym czynnikiem określającym poziom BNP był stopień obniżenia EF, zaś wymiar lewego przedsionka nie wykazywał związku ze stężeniem peptydu. Wydaje się więc, że w czynnościowej niedomykalności mitralnej wtórnej do dysfunkcji lewej komory nadmierna akumulacja BNP wynika przede wszystkim z zaburzenia czynności lewej komory, zaś zaawansowanie wady ma charakter raczej drugorzędny, jakkolwiek statystycznie istotny.

W wadach zastawki aortalnej poziomy BNP wzrastają bardziej wyraźnie przy pojawieniu się upośledzenia tolerancji wysiłku, podobnie jak dla wspomnianej wcześniej organicznej niedomykalności mitralnej z zachowaną kurczliwością lewej komory [Sutton et al., 2003]. Optymalne wartości odcięcia oddzielające chorych objawowych i bezobjawowych wyznaczono na poziomie 48,5 pg/ml w stenozie aortalnej [Gerber et al., 2003b], zaś 41,5 pg/ml w niedomykalności aortalnej [Gerber et al., 2003a]. Najprawdopodobniej wynika to z faktu, że uwalniania BNP jest bardziej związane z wczesnym zaburzeniem czynności lewej komory niż stopniem zwężenia [Qi et al., 2001], zaś dalsze narastanie sekrecji peptydu idzie w parze z narastaniem dysfunkcji komory, która jest czynnikiem silnie obciążającym rokowanie. Bergler-Klein i wsp. (2004) stwierdzili, że w ciężkiej stenozie aortalnej kierowanej do protezowania zastawki podwyższenie oznaczanego przed zabiegiem poziomu BNP powyżej 130 pg/ml wiązało się z gorszym rokowaniem w ciągu 1 roku po operacji. Można zatem mniemać, że oznaczenie BNP mogłoby być pomocne w optymalizacji wyboru terminu zabiegu kardiochirurgicznego w wadach aortalnych. McCullough (2004) zaproponował podwojenie wyjściowego poziomu peptydu podczas obserwacji chorych z wadami zastawki aortalnej oraz z niedomykalnością mitralną jako jedną z możliwych przesłanek przy decyzji o leczeniu operacyjnym.

1.5.6.2. Kardiomiopatia przerostowa

W 1993 roku Hasegawa i wsp. stwierdzili ok. 83-krotne podwyższenie poziomu BNP w osoczu chorych z kardiomiopatią przerostową i zawężaniem toru odpływu lewej komory, zaś

ok. 25-krotny wzrost stężenia peptydu w niezawężającej postaci kardiomiopatii. Uważa się, że do nadmiernej sekrecji peptydu przyczynia się zaburzenie układu włókien mięśniowych w *myocardium* w omawianym schorzeniu. Pewną rolę odgrywają także czynniki hemodynamiczne, stwierdzono bowiem korelacje między poziomem BNP a grubością przegrody międzykomorowej, masą lewej komory, wysokością gradientu na torze odpływu z lewej komory, wykładnikami jej dysfunkcji rozkurczowej bądź skurczowej [Nishigaki et al., 1996; Briguori et al., 2001; Thaman et al., 2006], a także indukowanym wysiłkiem niedokrwieniem [Nakamura et al., 2002]. W grupie 107 chorych z kardiomiopatią przerostową Maron i wsp. (2004) zaobserwowali, że poziom BNP był powiązany w sposób niezależny z klasą NYHA, wiekiem oraz grubością ściany lewej komory. Optymalną wartość odcięcia stężenia BNP dla objawowej niewydolności serca oceniono na 200 pg/ml, taką samą wartość przyniosła próba wyodrębnienia pacjentów z dużego stopnia ograniczeniem tolerancji wysiłku, jednakże stwierdzono niezadowalającą dokładność diagnostyczną pomiaru BNP. W przypadku NT-proBNP stwierdzono związek jego stężenia przekraczającego 1500 pg/ml z niekorzystnym rokowaniem w kardiomiopatii przerostowej [Mutlu et al., 2006], podczas gdy już przy poziomie peptydu przekraczającym 316 pg/ml opisano obniżenie maksymalnego zużycia tlenu o ponad 20% [Thaman et al., 2006].

1.5.6.3. Nadciśnienie tętnicze, przerost i dysfunkcja rozkurczowa lewej komory

Dane na temat poziomu BNP w samoistnym nadciśnieniu tętniczym nie są jednoznaczne. Buckley i wsp. (1993) stwierdzali niewielkiego stopnia (średnio o ok. 50%) podwyższenie stężenia BNP u tych chorych. Natomiast Nishikimi i wsp. (1996) obserwowali wyraźnie wyższy poziom BNP jedynie przy współistnieniu przerostu mięśnia lewej komory, podczas gdy Talwar i wsp. (2000a) dowodzili, że nadciśnienie tętnicze przebiega z niezmiennym stężeniem NT-proBNP także przy obecności przerostu, o ile nie wystąpi dysfunkcja skurczowa komory. W badaniu LIFE (*Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension*) stwierdzono związek poziomu NT-proBNP z masą mięśnia lewej komory i niekorzystnym rokowaniem w nadciśnieniu tętniczym [Hildebrandt et al., 2004]. Wydaje się, że za zależność między zwiększonym poziomem BNP a masą lewej komory odpowiada rozwój dysfunkcji rozkurczowej często towarzyszącej przerostowi [Uusimaa et al., 2004; Mottram et al., 2003]. Biorąc pod uwagę rozpowszechnienie nadciśnienia tętniczego, towarzyszący mu przerost mięśnia lewej komory z wybiórczym upośledzeniem jej czynności rozkurczowej jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za wysoki odsetek niewydolności

serca z zachowaną kurczliwością lewej komory, która u chorych w wieku podeszłym jest częstsza od niewydolności wtórnej do dysfunkcji skurczowej [Vasan et al., 1999]. Podwyższenie poziomu BNP w tej sytuacji wynika z zależności generacji BNP od końcowo-rozkurczowego naprężenia ściany lewej komory [Maeda et al., 1998; Iwanaga et al., 2006], które wzrasta zarówno przy upośledzeniu jej kurczliwości, jak i przy izolowanej dysfunkcji o charakterze rozkurczowym. Ponadto u chorych z przerostem lewej komory pewne znaczenie może mieć tworzenie BNP w obrębie lewego przedsionka najprawdopodobniej z uwagi na podwyższone ciśnienie w jego jamie przy współistniejącej dysfunkcji rozkurczowej [Murakami et al., 2002]. Optymalne wartości progowe dla identyfikacji chorych z izolowaną dysfunkcją lewej komory zostały wyznaczone na poziomie 92 pg/ml dla BNP [Lubien et al., 2002] oraz 110 pg/ml dla NT-proBNP [Tschoepe et al., 2005], a zatem w zakresie odpowiadającym jedynie miernemu podwyższeniu stężenia peptydów.

1.5.6.4. Nadciśnienie płucne i zatorowość płucna

Nagaya i wsp. (1998) porównali poziom BNP u 18 chorych z przeciążeniem objęściowym prawej komory serca spowodowanym wrodzonym ubytkiem przegrody międzyprzedsionkowej oraz u 26 pacjentów z przeciążeniem ciśnieniowym prawej komory w przebiegu zatorowości płucnej lub pierwotnego nadciśnienia płucnego. Stwierdzono znacznie wyższe poziomy BNP w przypadku przeciążenia prawej komory o charakterze ciśnieniowym (294 ± 72 vs 48 ± 14 pg/ml), jakkolwiek w obu przypadkach przewyższał on wartości w grupie kontrolnej ludzi zdrowych. Ponadto wykazano, że stężenie BNP korelowało dodatnio z wysokością ciśnienia w tętnicy płucnej, w prawym przedsionku oraz ciśnienia końcoworozkurczowego w prawej komory, zaś ujemnie z pojemnością minutową serca i EF prawej komory.

Pierwotne nadciśnienie płucne jest rzadkim schorzeniem związanym z rozwojem niewydolności prawokomorowej i podwyższonym ryzykiem zgonu, zaś stratyfikacja ryzyka tych chorych wciąż nie jest zadowalająca [Sandoval et al., 1994]. Nagaya i wsp. (2000) stwierdzili, że wraz ze wzrostem stężenie BNP zwiększało się ryzyko zgonu w ciągu średnio 2-letniej obserwacji w grupie 60 pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem płucnym. Przeżycie było znacznie krótsze u pacjentów ze stężeniem BNP przekraczającym wartość mediany, która wynosiła 150 pg/ml. Co więcej, jedynie w podgrupie z niekorzystnym rokowaniem obserwowano znamienne wzrost poziomu BNP w trakcie obserwacji, podczas gdy u

pozostałych stwierdzono tendencję przeciwną [Nagaya et al., 2000]. Ponadto badania polskich autorów dowiodły znaczenia prognostycznego NT-proBNP w dużego stopnia nadciśnieniu płucnym. Fijałkowska i wsp. (2006) objęli 36-miesięczną obserwacją grupę 55 kolejnych chorych z ciężkim nadciśnieniem płucnym (w tym 36 chorych z nadciśnieniem o charakterze pierwotnym), stwierdzając optymalną wartość odcięcia poziomu NT-proBNP 1400 pg/ml w aspekcie ryzyka zgonu przy czułości 88–100% i specyficzności 52–56%.

W ostrej zatorowości płucnej podwyższenie poziomu BNP stwierdza się u ok. 1/3 chorych [Silver et al., 2004]; towarzyszy ono zwykle przeciążeniu ciśnieniowemu prawej komory i jej niewydolności, która jest czynnikiem ryzyka zgonu. Wolde i wsp. (2003) badali użyteczność oznaczania BNP jako markera prognostycznego w tym schorzeniu, obserwując 110 kolejnych pacjentów przez okres 3 miesiące. Wysokie stężenia BNP były związane z większą śmiertelnością. Przy poziomie BNP $>21,7$ pmol/l (ok. 75 pg/ml) ryzyko zgonu wynosiło 17% wobec śmiertelności jedynie rzędu 1% u pacjentów pozostałych.. Wydaje się więc, że BNP jest silnym markerem prognostycznym także w zatorowości płucnej. Na wartość prognostyczną NT-proBNP w tym schorzeniu wskazują prace polskich autorów [Pruszczyk et al, 2003; Kostrubiec et al., 2005]. Pruszczyk i wsp. (2003) stwierdzili podwyższenie poziomu NT-proBNP u chorych z ostrą zatorowością zwłaszcza z towarzyszącym przeciążeniem prawej komory (mediana 4650 pg/ml, natomiast jedynie 363 pg/ml przy braku w/wym. przeciążenia), a także jego znaczenie prognostyczne w aspekcie śmiertelności wewnątrzszpitalnej. Z kolei Kostrubiec i wsp. (2005) zaproponowali stratyfikację ryzyka pacjentów z ostrą zatorowością płucną bez współistniejącej hipotonii na podstawie oznaczenia NT-proBNP i troponiny T przy przyjęciu do szpitala. Najwyższą 40-dniową śmiertelność (33%) stwierdzono u chorych z równoczesnym podwyższeniem stężeń NT-proBNP i troponiny T (NT-proBNP ≥ 600 pg/ml i troponina T $\geq 0,07$ ng/ml). Śmiertelność ta wynosiła natomiast jedynie 3,7% u chorych z NT-proBNP ≥ 600 pg/ml i troponiną T $<0,07$ ng/ml, zaś rokowanie było pomyślne (śmiertelność 0%) przy NT-proBNP <600 pg/ml.

1.5.6.5. Amyloidoza serca

Amyloidoza jest chorobą związaną z gromadzeniem się w tkankach nierozpuszczalnych złogów białka włókienkowego, tzw. amyloidu. W pierwotnej układowej amyloidozie przyczyną jest akumulacja fragmentów tzw. lekkich łańcuchów immunoglobulin, u około 50% chorych w momencie rozpoznania stwierdza się objawy zajęcia serca, zaś związane z tym powikłania

stanowią główną przyczynę zgonu [Kyle & Gertz, 1995]. Palladini i wsp. (2003) oceniali przydatność oznaczania NT-proBNP jako markera prognostycznego oraz wskaźnika postępu dysfunkcji serca u 152 pacjentów z pierwotną układową amyloidozą towarzyszącą monoklonalnej proliferacji plazmocytów. Zajęcie serca zdefiniowano na podstawie kryteriów klinicznych (objawy sugerujące niewydolność serca), elektrokardiograficznych (niski woltaż załamków w EKG) i echokardiograficznych. Te ostatnie obejmowały obniżenie EF lewej komory, wady zastawkowe, pogrubienie ścian lewej bądź prawej komory, a także charakterystyczny dla schorzenia obraz *myocardium* (tzw. „iskrzące ziarnistości” – *granular sparkling*). Dla wartości odcięcia stężenia NT-proBNP 152 pmol/l (ok. 1300 pg/ml) stwierdzono 93% dodatnią wartość predykcyjną i 90% ujemną wartość predykcyjną w aspekcie cech zajęcia serca przez chorobę podstawową. W analizie wieloczynnikowej poziom NT-proBNP ≥ 152 pmol/l oznaczał prawie 7-krotnie wyższe ryzyko zgonu podczas średnio 12-miesięcznej obserwacji. Ponadto u chorych zakwalifikowanych do chemioterapii stwierdzono związek między adekwatną odpowiedzią na leczenie ($\geq 50\%$ spadek poziomu białka monoklonalnego we krwi) a zmniejszeniem stężenia NT-proBNP [Palladini et al., 2003].

2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

Podwyższony poziom BNP oraz NT-proBNP jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym nie tylko w niewydolności serca, ostrych zespołach wieńcowych, ale także u chorych ze stabilną dusznicą bolesną. Związek ten okazał się częściowo niezależny od powiązania stężenia BNP/NT-proBNP z innymi wskaźnikami podwyższonego ryzyka, jak obniżenie EF, rozległość miażdżycy tętnic wieńcowych w badaniu angiograficznym,

dysfunkcja nerek oraz cechy dysfunkcji rozkurczowej lewej komory w badaniach inwazyjnych i nieinwazyjnych [Kragelund et al., 2005; Omland et al., 2005; Bibbins-Domigo et al., 2007; Maerz et al., 2007].

Do chwili obecnej nie została rozstrzygnięta kwestia, czy niedokrwienie mięśnia indukuje wzrost generacji BNP/NT-proBNP jedynie za pośrednictwem dysfunkcji rozkurczowej lewej komory, która – jak uprzednio wspomniano – jest także związana ze wzrostem stężenia krążącego peptydu [Lubien et al., 2002; Tschoepe et al., 2005]. W chorobie niedokrwiennej zaburzenia czynności rozkurczowej lewej komory serca wyprzedzają zaburzenia skurczu i są wczesną konsekwencją niedoboru energii w kardiomiocytach [Pouleur, 1990]. Jednakże została sformułowana hipoteza, że niedokrwienie *myocardium* może nasilać uwalnianie BNP w sposób częściowo niezależny od dysfunkcji rozkurczowej lewej komory serca [Goetze et al., 2003; D'Souza & Baxter, 2003; Tateishi et al., 2000; Kragelund et al., 2005]. W publikacji wyników z *Heart and Soul Study* [Bibbins-Domingo et al., 2003] spośród czynników wpływających na poziom BNP jednoczesnej analizie poddano m. in. obecność indukowanego wysiłkiem niedokrwienia *myocardium* (ocenianego za pomocą echokardiografii wysiłkowej) oraz funkcję skurczową i rozkurczową lewej komory w badaniu echokardiograficznym. W omawianej publikacji obecność niedokrwienia powiązana była z podwyższonym poziomem BNP we krwi w sposób częściowo niezależny od interakcji z parametrami czynności skurczowej i rozkurczowej lewej komory jedynie u pacjentów po przebytych zawale serca. Natomiast u chorych bez przebytego zawału w wywiadzie nie zauważono znamiennych zależności między wynikiem próby wysiłkowej a stężeniem BNP zarówno w analizie jedno-, jak i wieloczynnikowej.

Celem niniejszego badania była odpowiedź na pytanie, czy u chorych ze stabilną dusznicą bolesną, prawidłową funkcją skurczową i rozkurczową lewej komory oraz bez przerostu lewej komory ani przebytego zawału serca istnieje związek między poziomem NT-proBNP a wynikiem elektrokardiograficznej próby wysiłkowej. Gdyby zjawisko to zostało potwierdzone, oznaczałoby to:

- konieczność uwzględnienia kolejnego czynnika przy interpretacji wyniku oznaczania NT-proBNP w praktyce klinicznej;
- możliwe dodatkowe wytłumaczenie obserwowanej w niedawnych publikacjach niekorzystnej wartości prognostycznej podwyższonego poziomu BNP (lub NT-proBNP) u chorych ze stabilną dusznicą bolesną, przy czym związek ten cechował znamienność

także po uwzględnieniu poprawki na wartość EF oraz ciśnienia końcoworozkurczowego w lewej komorze [Kragelund et al., 2005; Omland et al., 2005; Maerz et al., 2007].

3. METODYKA

3.1. Grupa badana

Do badań zakwalifikowano 100 osób (29 kobiet i 71 mężczyzn) w wieku 40–74 lat (średnia wieku 58 ± 9 lat) pozostających w kontroli Poradni Przyklinicznej II Kliniki Kardiologii Collegium Medicum UJ z powodu stabilnej duszniczy bolesnej w stopniu II lub III wg

klasyfikacji CCS (Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego, *Canadian Cardiovascular Society*), ze znamionnymi obniżkami odcinka ST podczas elektrokardiograficznego testu wysiłkowego. Przy typowaniu chorych do badań zastosowano poniższe kryteria wyłączające z badań:

- niekorzystne warunki obrazowania echokardiograficznego,
- objawy sugerujące niewydolność serca,
- cechy dysfunkcji skurczowej lub rozkurczowej lewej komory w badaniu echokardiograficznym,
- przerost lewej komory w badaniu echokardiograficznym,
- istotne hemodynamicznie wady zastawkowe serca,
- wady wrodzone serca,
- ciśnienie tętnicze ponad 140/90 mm Hg pomimo leczenia hipotensyjnego,
- ostre zespoły wieńcowe,
- przebyty zawał serca,
- przebyte zabiegi angioplastyki wieńcowej lub chirurgicznej rewaskularyzacji serca,
- zwolnienie rytmu zatokowego poniżej 55/min, blok przedsionkowo-komorowy II lub III stopnia,
- migotanie lub trzepotanie przedsionków,
- liczna ekstrasystolia nadkomorowa lub komorowa,
- blok lewej odnogi pęczka Hisa,
- stan po implantacji stymulatora serca,
- obniżki odcinka ST o więcej niż 0,5 mm w wyjściowym zapisie EKG,
- brak istotnych ($\geq 70\%$) zwężeń w tętnicach wieńcowych, o ile zostało wykonane badanie koronarograficzne,
- przewlekła obturacyjna choroba płuc,
- zatorowość płucna,
- ostre i przewlekłe stany zapalne,
- choroby nowotworowe,
- zaburzenia endokrynologiczne (z wyjątkiem cukrzycy), poziom hemoglobiny poniżej 11 g/l,
- wyniki biochemiczne lub kliniczne zaburzeń czynności wątroby,
- choroby neurologiczne lub psychiatryczne.

3.2. Badanie echokardiograficzne

Do badań echokardiograficznych użyto aparatu HP Sonos 5500 (*Hewlett Packard*). Oceniono kurczliwość oraz wymiary lewej komory oraz wykonano badanie przepływu krwi przez zastawki metodą dopplerowską. Do badań kwalifikowano jedynie pacjentów bez odcinkowych zaburzeń kurczliwości lewej komory, z wartością EF (metoda Simpsona) ponad 60%, z indeksem wymiaru końcoworozkurczowego lewej komory poniżej 3,2 cm/m² oraz bez wad wrodzonych serca ani istotnych hemodynamicznie wad zastawkowych. Ponadto zmierzono masę mięśnia lewej komory serca celem wykluczenia jej przerostu; jako kryterium przerostu przyjęto wartości masy lewej komory wg wzoru Devereux poniżej 125 g/m² u mężczyzn i 110 g/m² u kobiet wg aktualnych zaleceń Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego i Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego [Mancia et al., 2007].

Wykonano także badanie dopplerowskie napływu mitralnego oraz przepływu w żyłach płucnych celem wykluczenia dysfunkcji rozkurczowej lewej komory. Prawidłowe parametry napływu mitralnego zdefiniowano jako: stosunek amplitud fal wczesnego napływu (E) i fali przedsionkowej (A) (E/A) 1–2 i czas deceleracji fali E 150–220 ms dla osób w wieku <50 lat (zaś E/A 0,5–2,0 i czas deceleracji fali E 150–280 ms dla osób w wieku ≥50 lat) oraz czas rozkurczu izowolumetrycznego 70–100 ms. W przypadku żył płucnych przyjęto, że przeciwko dysfunkcji rozkurczowej przemawiają: stosunek maksymalnej prędkości przepływu w fazie skurczu i rozkurczu komory 1,0–1,5 dla chorych młodszych niż 50 lat (zaś 1,0–2,5 dla osób w wieku ≥50 lat), prędkość maksymalna wstecznego (odprzedsionkowego) przepływu krwi do żyły płucnej podczas skurczu przedsionka poniżej 35 cm/s oraz czas trwania tego przepływu nie przekraczający o więcej niż 30 ms czasu fali A napływu mitralnego [*European Study Group on Diastolic Heart Failure*, 1998; Galderisi, 2005; Swedberg et al., 2005; Tschoepe et al., 2005; Paulus et al. 2007].

W podgrupie 46 chorych za pomocą dopplera tkankowego zmierzono prędkość ruchu bocznej części pierścienia zastawki mitralnej (wczesnorozkurczowa fala E' i związana ze skurczem przedsionka fala A' w obrazowaniu metodą dopplera tkankowego) w 4-jamowej projekcji koniuszkowej. Za stan prawidłowy przyjęto stosunek amplitud fal E' i A' (E'/A') ponad 1,0 oraz amplitudę fali E' ruchu pierścienia mitralnego ponad 8 cm/s [Galderisi, 2005; Tschoepe et al., 2005].

3.3. Elektrokardiograficzna próba wysiłkowa

Wysiłkowe badanie EKG wykonano na bieżni ruchomej (*GE Marquette Medical Systems, Inc.*) z zastosowaniem stopniowanego obciążenia według standardowego protokołu Bruce'a (co 3 min. wzrost szybkości ruchu i kąta nachylenia bieżni). Zastosowano kalibrację zapisu EKG z amplitudą sygnału 1 mV odpowiadającą 10 mm. Przyjęto standardowe kryteria zakończenia próby: silne i narastające dolegliwości dławicowe, duszność lub zmęczenie, poziome lub skośne w dół obniżki odcinka ST o >2 mm, nadmierny wzrost ciśnienia tętniczego ($>250/115$ mm Hg), spadek skurczowego ciśnienia tętniczego o >10 mm Hg w porównaniu z poprzednim etapem próby; o ile nie wystąpiły żadne z powyższych, test kontynuowano do osiągnięcia 85% właściwej dla wieku maksymalnej częstości akcji serca. W żadnym przypadku nie wystąpiły takie przesłanki przerwania testu, jak objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego, częstoskurcz komorowy, wielogniskowe pobudzenia ektopowe komorowe, blok odnogi pęczka Hisa lub uniesienie odcinka ST o >1 mm.

W celu oceny osiągniętego obciążenia pracą podczas testu posłużono się jednostkami MET (*metabolic equivalent*) – równoważnika wydatku metabolicznego odpowiadającego jednostce zużycia tlenu w wysokości 3,5 ml O₂/kg masy ciała/min. Znamienne niedokrwiennie obniżki odcinka ST zdefiniowano względem końcowego punktu odcinka P-Q jako przemieszczenie odcinka ST skośne w dół lub poziome (nachylenie odcinka ST <1 mV/s, czyli <10 mm/s) o co najmniej 0,1 mV (1 mm) przy pomiarze 80 ms za obniżonym o $\geq 0,1$ mV (1 mm) punktem łączącym J (60 ms przy akcji serca >130 /min.) utrzymujące się w 3 kolejnych ewolucjach o stabilnej linii bazowej [Fletcher et al., 2001; Morrow et al., 2005a]. Dla standardowych odprowadzeń EKG wyznaczono maksymalne obniżenie odcinka ST podczas testu; o ile obniżki te miały charakter znamienych zmian sugerujących niedokrwienie (zdefiniowanych jak powyżej), powyższą wartość uwzględniano w dalszych obliczeniach. Następnie sumowano w/wym. wartości, zaś uzyskaną sumę (mm) włączano do dalszych analiz. Pomiar sumy maksymalnych obniżek odcinka ST wzorowany jest na podobnej metodologii zastosowanej w badaniu ACIP (*Asymptomatic Cardiac Ischemia Pilot study*) [Rogers et al., 1995].

W przypadku, gdy u danego chorego nie została wykonana diagnostyka inwazyjna tętnic wieńcowych, do grupy badanej kwalifikowano jedynie pacjentów, u których znamienne obniżki ST w trakcie testu wysiłkowego były skojarzone z typowymi dolegliwościami

dławicowymi w klatce piersiowej; wykazano bowiem, że prawdopodobieństwo istotnych zwężeń w naczyniach wieńcowych wynosi wówczas ok. 90% [Morrow et al., 2005a].

3.4. Badanie koronarograficzne

Badanie koronarograficzne wykonano w podgrupie 60 osób hospitalizowanych w II Klinice Kardiologii Collegium Medicum UJ celem wykonania diagnostyki inwazyjnej tętnic wieńcowych. Nakłucie tętnicy udowej wykonano techniką Selingera; selektywne podanie kontrastu do tętnic wieńcowych przeprowadzono w standardowych projekcjach przy użyciu aparatury Philips Integris HM 3000. Angiogramy zostały ocenione przez osoby nie posiadające informacji o wynikach oznaczenia NT-proBNP. Do badań kwalifikowano jedynie pacjentów z widocznymi istotnymi ($\geq 70\%$) zwężeniami w obrębie tętnic wieńcowych. Rozległość miażdżycy tętnic wieńcowych klasyfikowano jako chorobę 1-, 2- i 3-naczyniową, zgodnie z rekomendacjami Amerykańskich Towarzystw Kardiologicznych na temat postępowania z chorymi ze stabilną dusznicą bolesną [Gibbons et al., 2002].

3.5. Oznaczenie stężenia NT-proBNP w osoczu krwi

Próbki krwi celem oznaczenia NT-proBNP pobierano z żyły dołu łokciowego po 10–15 min. pozostawiania chorego w pozycji leżącej. Krew pobierano do probówek zawierających wersenian jako środek przeciwkrzepliwy, następnie wirowano przy 2000 g przez 10 min., a uzyskane próbki osocza zamrażano w temp. -20°C . Oznaczenie NT-proBNP przeprowadzono immunochemiczną techniką elektrochemiluminescencyjną (*electrochemiluminescence immunoassay*) przy zastosowaniu analizatorów Elecsys 2010 (*Roche Diagnostics*). Metoda ta wykorzystuje dwa przeciwciała poliklonalne rozpoznające epitopy w obrębie łańcucha NT-proBNP, jest szybka i precyzyjna oraz nie wymaga pracochłonnego etapu ekstrakcji próbki [Karl et al., 1999]. Zasadę testu przedstawia poniższy diagram:

PIERWSZA INKUBACJA

Antygen zawarty w 20 μ l próbki, biotynowane przeciwciało poliklonalne przeciwko NT-proBNP oraz przeciwciało poliklonalne przeciwko NT-proBNP znakowane kompleksowym związkiem rutenu (tris (2,2'-dipirydylo) ruten II) tworzą kompleks immunologiczny



DRUGA INKUBACJA

Po dodaniu pokrytych streptawidyną mikrocząstek, kompleks immunologiczny wiąże się z fazą stałą poprzez oddziaływanie biotyna–streptawidyna.



POMIAR CHEMILUMINESCENCJI

Mieszanina reakcyjna jest aspirowana do kuwety, gdzie mikrocząsteczki są magnetycznie unieruchamiane na powierzchni elektrody. Niezwiązane substancje są następnie usuwane za pomocą roztworu ProCell. Przyłożenie napięcia do elektrody wywołuje emisję chemiluminescencyjną mierzoną przez fotopowielacz.



OBLICZANIE WYNIKÓW

Wyniki są obliczane na podstawie krzywej kalibracyjnej generowanej dwupunktowo na podstawie wzorcowej krzywej kalibracyjnej definiowanej na podstawie kodu paskowego dostarczanego z odczynnikami

3.6. Oznaczenie klirensu endogennej kreatyniny

Do oznaczania ilościowego kreatyniny w surowicy wykorzystano reakcję Jaffego, w której kreatynina i kwas pikrynowy tworzą w środowisku alkalicznym barwny kompleks. Proporcjonalne do zawartości kreatyniny w badanej próbce natężenie zabarwienia powstałego kompleksu mierzono kolorymetrycznie przy długości fali $\lambda = 510$ nm. Następnie wyznaczono klirens endogennej kreatyniny (KKr) w oparciu o wzór zaproponowany przez autorów badania MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) na podstawie poziomu kreatyniny w surowicy, wieku i płci badanej osoby [Stevens et al., 2006].

3.7. Analiza statystyczna

Zmienne o charakterze ciągłym wykazujące rozkład normalny przedstawiono jako średnie arytmetyczne \pm odchylenie standardowe. Do oceny normalności rozkładu zastosowano test Shapiro-Wilka. W przypadku zmiennych ciągłych nie spełniających kryterium rozkładu normalnego, przedstawiono wartości mediany i przedziału międzykwartylowego (między 25-tym a 75-tym percentylem). Natomiast parametry o charakterze jakościowym (płeć) oraz skategoryzowanym (zmiany angiograficzne w tętnicach wieńcowych opisane za pomocą zmiennej przyjmującej wartości 1, 2 albo 3 w zależności od obecności choroby odpowiednio 1-, 2- bądź 3-naczyniowej) zobrazowano jako liczebności oraz odsetek chorych, którym przypisano daną wartość rozpatrywanej zmiennej.

W celu oceny zależności między poziomem NT-proBNP a analizowanymi parametrami, dokonano podziału badanej grupy w oparciu o przynależność do poszczególnych kwartyli stężenia NT-proBNP. Utworzono mianowicie nową zmienną, przyjmującą wartości z zakresu liczb całkowitych w przedziale I–IV w zależności od tego, któremu kwartylowi poziomowi NT-proBNP odpowiadało stężenie peptydu u danego pacjenta. W celu odpowiedzi na pytanie, czy istnieje zależność między poziomem NT-proBNP a badanymi parametrami (tzw. efekt trendu), wyznaczono wartość współczynnika korelacji Spearmana (ρ) opartego na tzw. szeregu rang i odpowiadającą mu miarę istotności statystycznej (p) dla związku między tymi parametrami a uprzednio wymienioną zmienną, opisującą numer kwartyli stężenia NT-proBNP.

Następnie analizowano związki zmiennych o charakterze ciągłym lub jakościowym ze stężeniem NT-proBNP rozpatrywanym jako zmienna ciągła. Wobec braku spełnienia kryterium normalności rozkładu stężenia NT-proBNP, zlogarytmowano wartość poziomu NT-proBNP (logarytm naturalny), uzyskując w ten sposób zmienną o charakterze normalnym (\log [NT-proBNP]). Zależności między zmiennymi o charakterze ciągłym a poziomem NT-proBNP zobrazowano za pomocą współczynnika korelacji Pearsona (r) z 95-procentowym przedziałem ufności (zaznaczonym przerywanymi liniami na rycinach obrazujących proste regresji). Kwadrat współczynnika r oznacza relatywną część zmienności wspólnej dla obu zmiennych, czyli wynikającą z ich wzajemnej zależności. Natomiast w przypadku poszukiwania związku między stężeniem NT-proBNP a zmiennymi jakościowymi wyznaczono współczynnika korelacji Spearmana (ρ).

W celu odpowiedzi na pytanie, które tzw. zmienne niezależne wpływają na zmienną zależną (\log [NT-proBNP]) w sposób niezależny od wzajemnych interakcji między zmiennymi, posłużono się liniową regresją wielokrotną z krokowym doбором zmiennych. Z uwagi na wzajemne skorelowanie części zmiennych niezależnych zastosowano metodę tzw. regresji grzbietowej (*ridge regression*) przyjmując wartość stałej λ jako 0,1. Wyniki przedstawiono jako

średnie standaryzowane współczynniki regresji (β), ich błędy standardowe (SEM, *standard error of the mean*) oraz wartości p dla zmiennych, które znalazły się w końcowym modelu regresji. Uzyskany model regresji scharakteryzowano, podając kwadrat współczynnika korelacji wielokrotnej (R^2). Liczba ta określa, w jakim stopniu zmienność zmiennej zależnej może być tłumaczona przez zmienne niezależne obecne w ostatecznym modelu regresji. Znamienność statystyczną zdefiniowano jako $p < 0,05$, natomiast wartości p mieszczące się w przedziale 0,05–0,15 przyjęto jako nieznamiennej tendencję. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono za pomocą pakietu statystycznego Statistica 4.1. (*StatSoft, Inc.*, 1993).

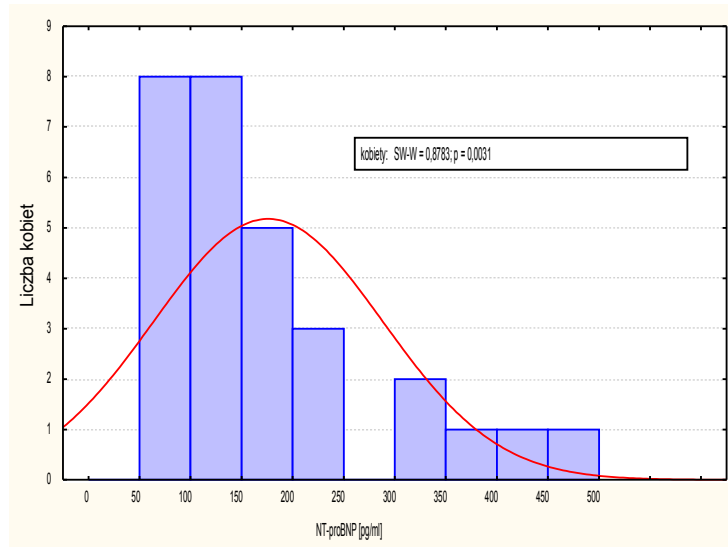
4. WYNIKI

4.1. Badanie zgodności stężenia NT-proBNP z rozkładem normalnym

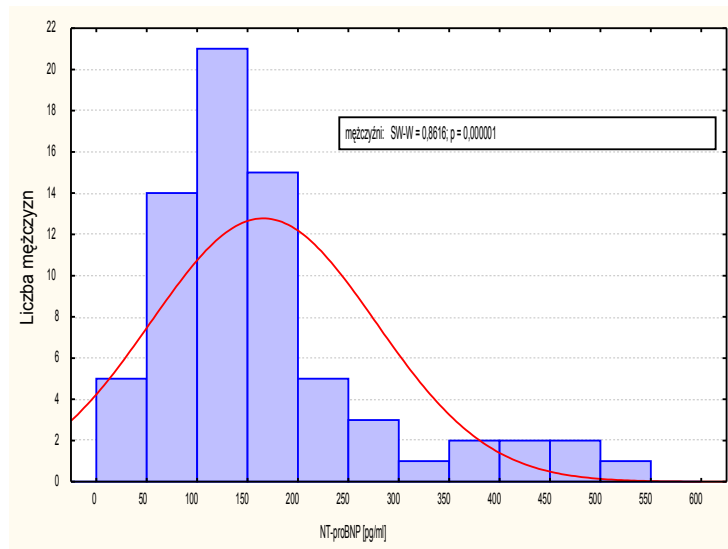
Sporządzono histogramy poziomów NT-proBNP dla grupy kobiet, mężczyzn i całej badanej grupy (Ryc.4A–C). Istotna znamienność dla statystyk W w teście Shapiro-Wilka dowodzi, że otrzymane rozkłady nie spełniały kryterium normalności.

Ryc. 4A–C. Histogramy stężeń NT-proBNP w grupie kobiet (A), mężczyzn (B) oraz dla całej grupy badanych (C) - wyniki testu Shapiro-Wilka.

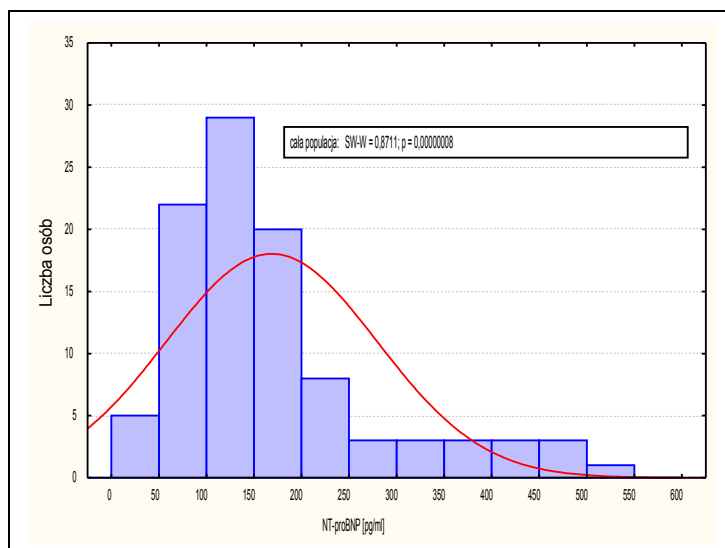
4A



4B



4C



4.2. Poziom NT-proBNP a charakterystyka badanych osób

Przy wzroście poziomu NT-proBNP w osoczu krwi – reprezentowanym przez kolejne kwartyle stężenia peptydu (Tab.2) – obserwowano nie osiągniętą statystycznej tendencję do związku poziomu hormonu z wiekiem, w głównej mierze wynikającą z nieco młodszego wieku chorych z poziomem NT-proBNP w zakresie pierwszego kwartyła (Ryc.5). Nie stwierdzono zależności stężenia NT-proBNP od płci badanych pacjentów (Ryc.6), wartości wskaźnika masy ciała (BMI, *body mass index*) (Ryc.7), współistnienia nadciśnienia tętniczego, cukrzycy ani parametrów funkcji rozkurczowej lewej komory ocenianej za pomocą dopplera tkankowego (Tab. 2). Jedynie nieznamiennie tendencje wiązały NT-proBNP z wartością EF oraz indeksem masy lewej komory (Ryc.8). Obserwowano natomiast istotne zależności między poziomem NT-proBNP a stężeniem kreatyniny w surowicy (Ryc.9) oraz jej klirensiem (KKr) (Ryc.10). Najwyraźniejsze różnice wystąpiły dla zaawansowania angiograficznego choroby wieńcowej – wraz z nasileniem zmian w koronarografii narastał poziom NT-proBNP (Ryc.11).

T ab. 2. Kwartyle poziomu NT-proBNP a charakterystyka badanych chorych

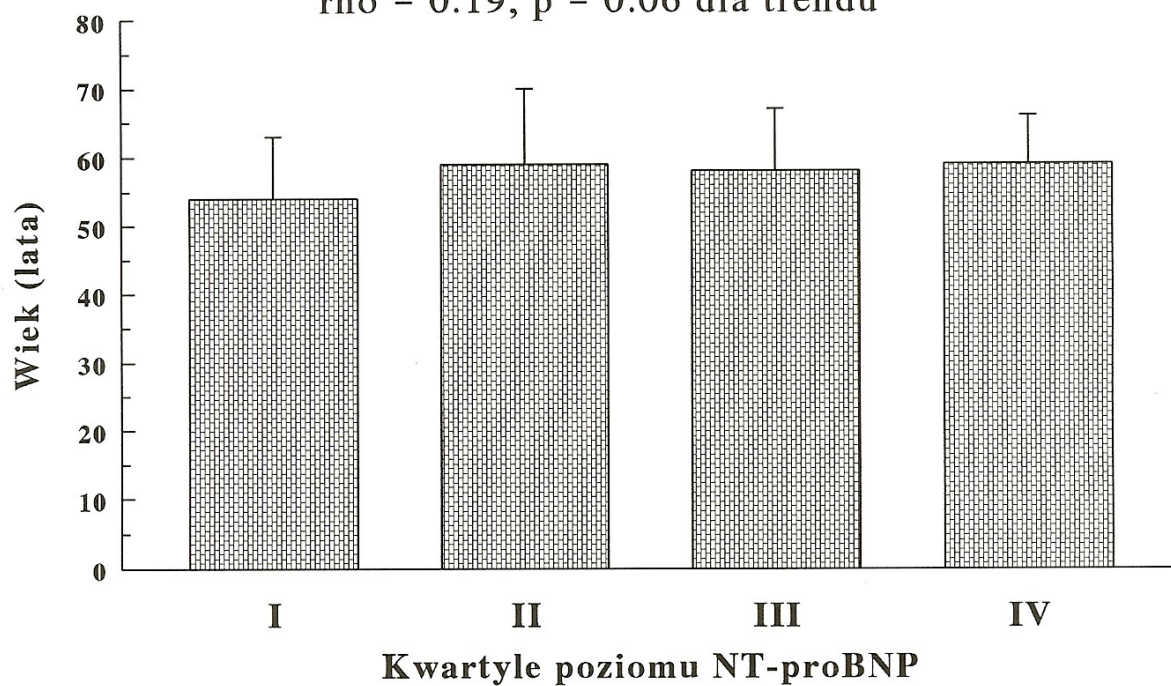
	<i>NT-proBNP (pg/ml)</i>				<i>rho</i>	<i>p</i>
	<i><95,5</i>	<i>95,5–135,2</i>	<i>135,3–198,7</i>	<i>>198,7</i>		
Wiek, lata	54 ± 9	59 ± 11	58 ± 9	59 ± 7	0,19	0,06
Kobiety, n (%)	8 (32)	6 (24)	7 (28)	8 (32)	–0,01	ns
BMI, kg/m ²	27,1 ± 3,2	26,5 ± 3,6	27,5 ± 2,4	27,2 ± 4,2	0,03	ns
Nadciśnienie, n (%)	10 (40)	12 (48)	11 (44)	13 (52)	0,07	ns
Cukrzyca, n (%)	6 (24)	7 (28)	8 (32)	6 (24)	0,04	ns
Kreatynina, µmol/l	87 ± 20	96 ± 18	94 ± 24	100 ± 16	0,25	0,01
KKr, ml/min./1.73 m ²	84 ± 24	74 ± 18	75 ± 29	70 ± 16	–0,23	0,02
EF, %	70 ± 5	68 ± 6	69 ± 6	69 ± 7	–0,16	0,10
LVMI (g/m ²)	88 ± 22	94 ± 19	92 ± 20	95 ± 23	0,18	0,07
Czas deceleracji fali E, ms	217 ± 30	226 ± 38	238 ± 36	234 ± 33	0,09	ns
E ^a , cm/s	10,2 ± 1,9	9,9 ± 1,6	10,0 ± 1,8	9,7 ± 1,5	–0,10	ns
E ['] /A ^{'a}	1,5 ± 0,3	1,5 ± 0,4	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,3	–0,11	ns
E/E ^{'a}	6,6 ± 2,5	7,0 ± 2,7	6,8 ± 3,0	7,7 ± 3,3	0,16	ns
Choroba 1-/2-/3-naczyn. ^b						
n	10/4/2	14/2/1	6/2/4	1/6/8		
%	62.5/25/12.5	82/12/6	50/17/33	7/40/53	0,46	0,0002

^a stosunki amplitud fali E napływu mitralnego oraz wczesnorozkurczowej fali E['] i związanej ze skurczem przedsionka fali A['] prędkości ruchu pierścienia mitralnego oznaczono u 46 osób;

^b koronarografię wykonano u 60 chorych; odsetki zostały obliczone po ograniczeniu analizy do w/wym. 60 osób.

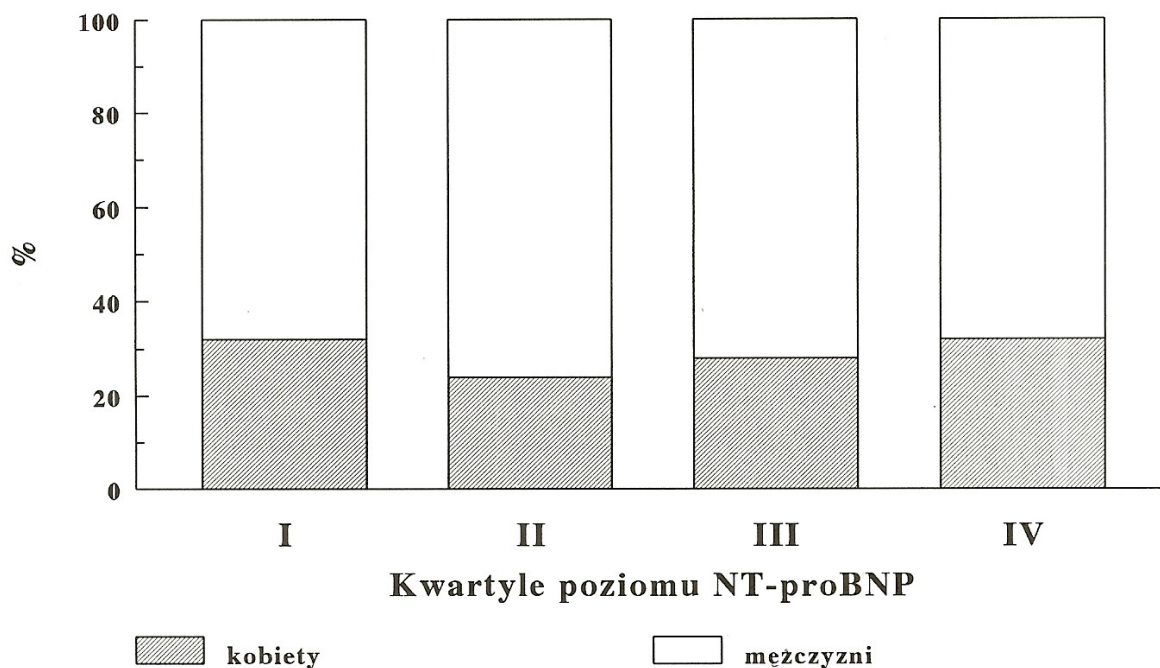
Ryc. 5. NT-proBNP a wiek

$\rho = 0.19$, $p = 0.06$ dla trendu



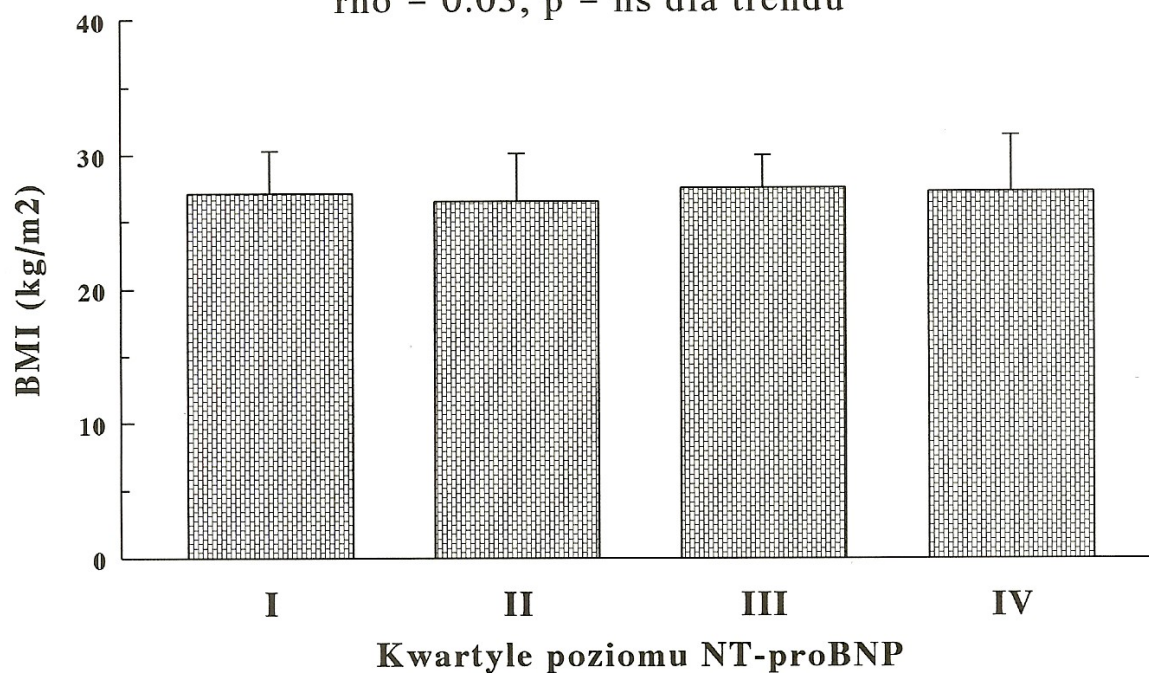
Ryc. 6. NT-proBNP a odsetek kobiet

$\rho = -0.01$, $p = \text{ns}$ dla trendu



Ryc. 7. NT-proBNP a BMI

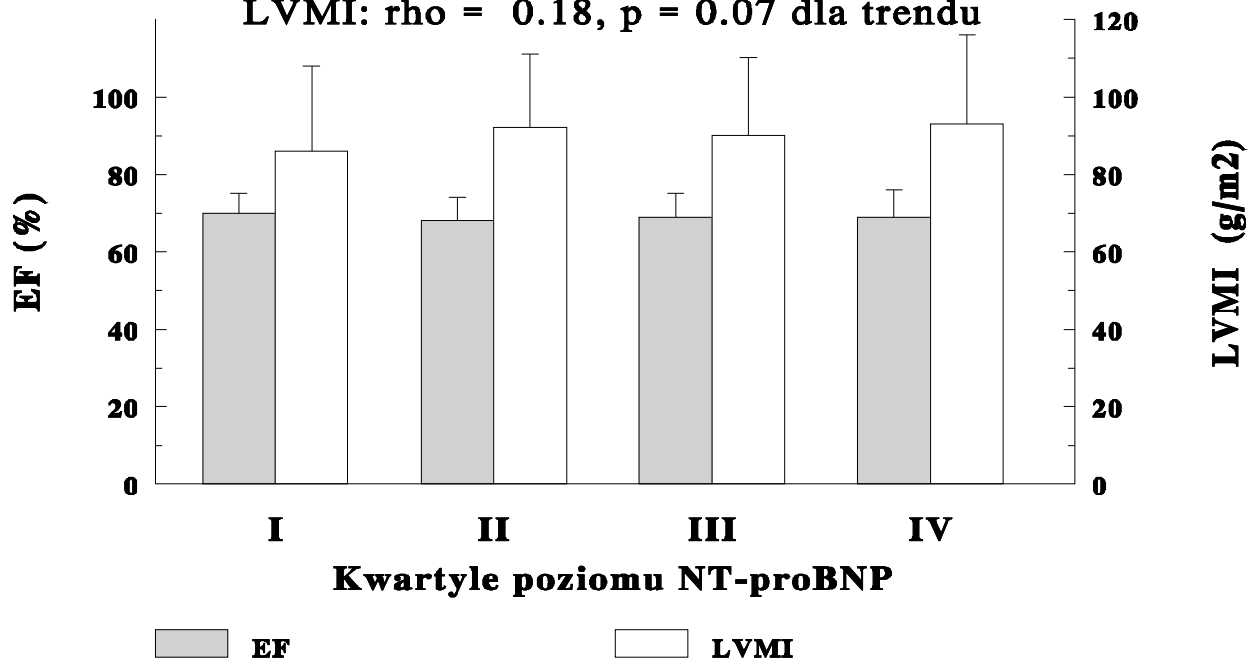
$\rho = 0.03$, $p = \text{ns}$ dla trendu



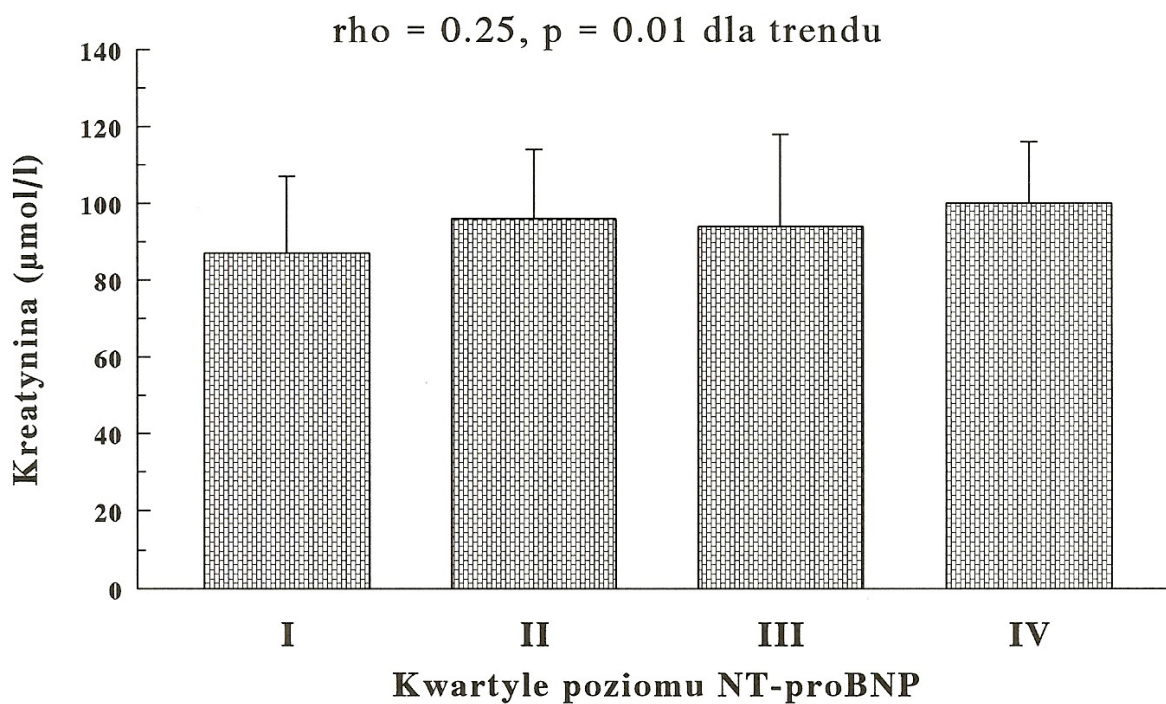
Ryc. 8. NT-proBNP a EF i LVMI

EF: $\rho = -0.16$, $p = 0.10$ dla trendu

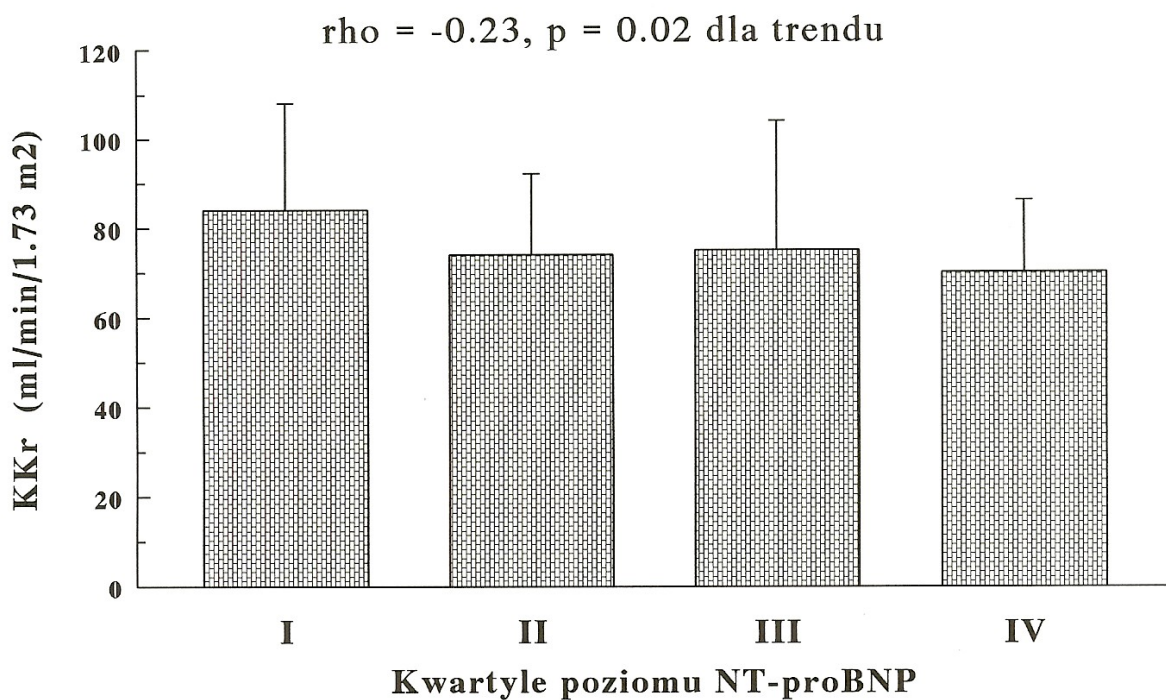
LVMI: $\rho = 0.18$, $p = 0.07$ dla trendu



Ryc. 9. NT-proBNP a poziom kreatyniny

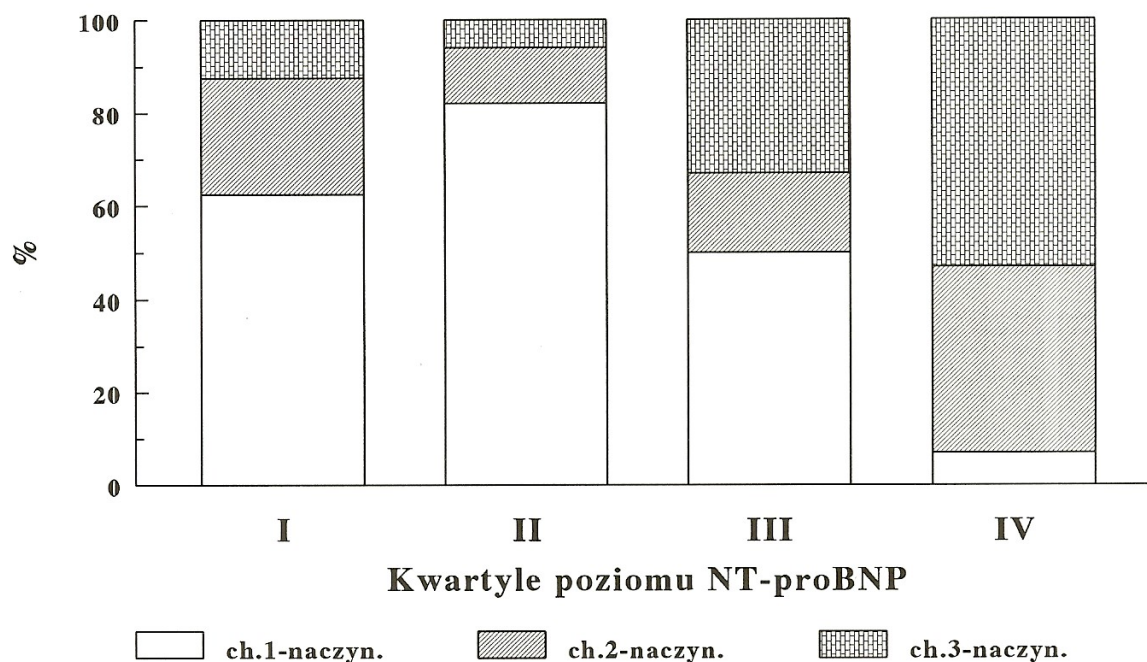


Ryc. 10. NT-proBNP a klirens kreatyniny



Ryc. 11. NT-proBNP a koronarografia

$\rho = 0.46$, $p = 0.0002$ dla trendu



Powyższe zależności potwierdziła analiza z \log [NT-proBNP] rozpatrywanym jako zmienna o charakterze ciągłym; stwierdzono istotne zależności od rozległości zmian w koronarografii (*vide* podrozdział 4.4., Tab.6) i parametrów czynności nerek, natomiast związki z wiekiem, EF i indeksem masy lewej komory wykazywały jedynie nieznamiennie tendencje (Tab.3)

Tab. 3. Stężenie NT-proBNP a charakterystyka badanych chorych – wyniki analizy jednoczynnikowej dla całej grupy 100 badanych osób z \log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym

	r lub rho*	p
Wiek	0,17	0,09
Płeć	-0,02*	ns
BMI	0,11	ns
Kreatynina	0,28	0,007
KKr	-0,27	0,008
EF	-0,15	0,14
LVMI	0,16	0,10

* rho zamiast r obliczono dla określenia wpływu płci – zmiennej o charakterze jakościowym

4.3. Poziom NT-proBNP a wyniki testu wysiłkowego

Nie obserwowano zależności stężenia NT-proBNP od czasu wysiłku (Tab.4; Ryc.12A) ani osiągniętego obciążenia pracą (Tab.4; Ryc.12B), natomiast stwierdzono znamiennej związek z sumą znamienych obniżek odcinka ST (Tab.4; Ryc.13). Przedstawione zależności utrzymywały się niezależnie od tego, czy posłużono się porównaniem w/wym. parametrów w podgrupach wyodrębnionych na podstawie przedziałów kwartylowych poziomu NT-proBNP (Tab.4; Ryc.12A, 12B,13), czy poszukiwaniem ewentualnych korelacji z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym (Tab.5; Ryc.14,15)

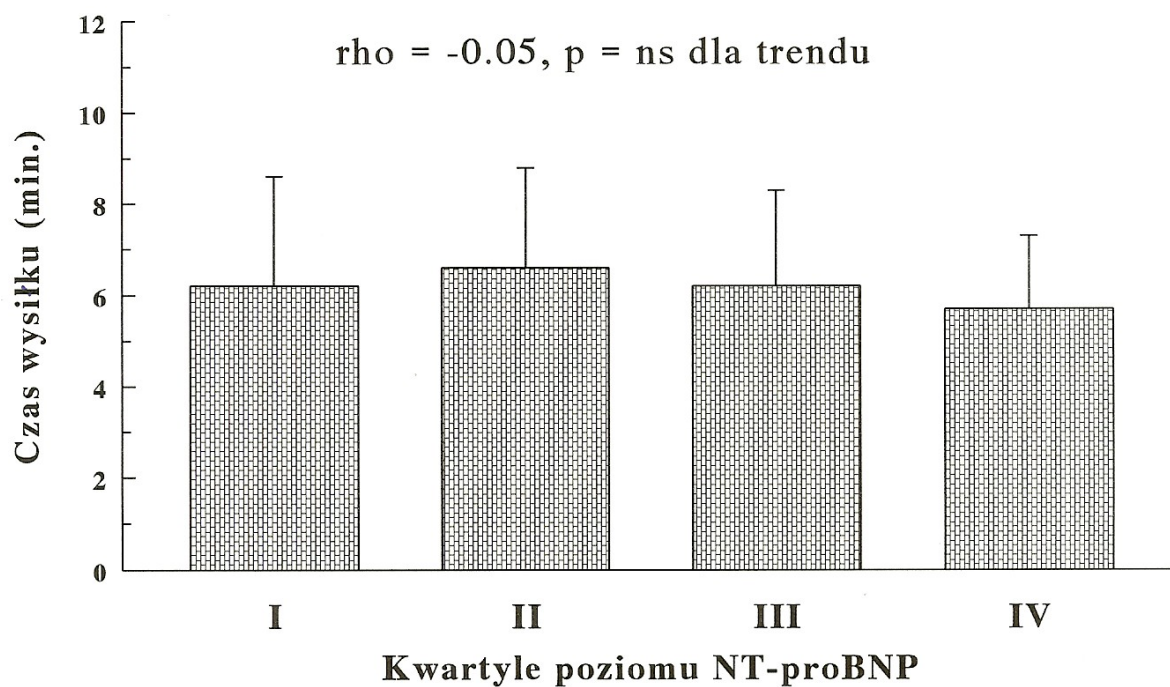
Tab. 4. Kwartyly poziomu NT-proBNP a analizowane parametry uzyskane w trakcie testu wysiłkowego dla całej grupy 100 badanych osób

	<i>NT-proBNP (pg/ml)</i>				<i>rho</i>	<i>p</i>
	<95,5	95,5–135,2	135,3–198,7	>198,7		
Czas wysiłku, min.	6,2±2,4	6,6±2,2	6,2±2,1	5,7±1,6	-0,05	ns
Osiągnięte obciążenie pracą, MET	6,9±2,7	7,2±2,2	6,8±2,2	6,5±1,7	-0,07	ns
Suma znamienych obniżek odcinka ST, mm	5,4±2,3	6,0±2,6	5,9±3,1	8,0±3,8	0,305	0,002

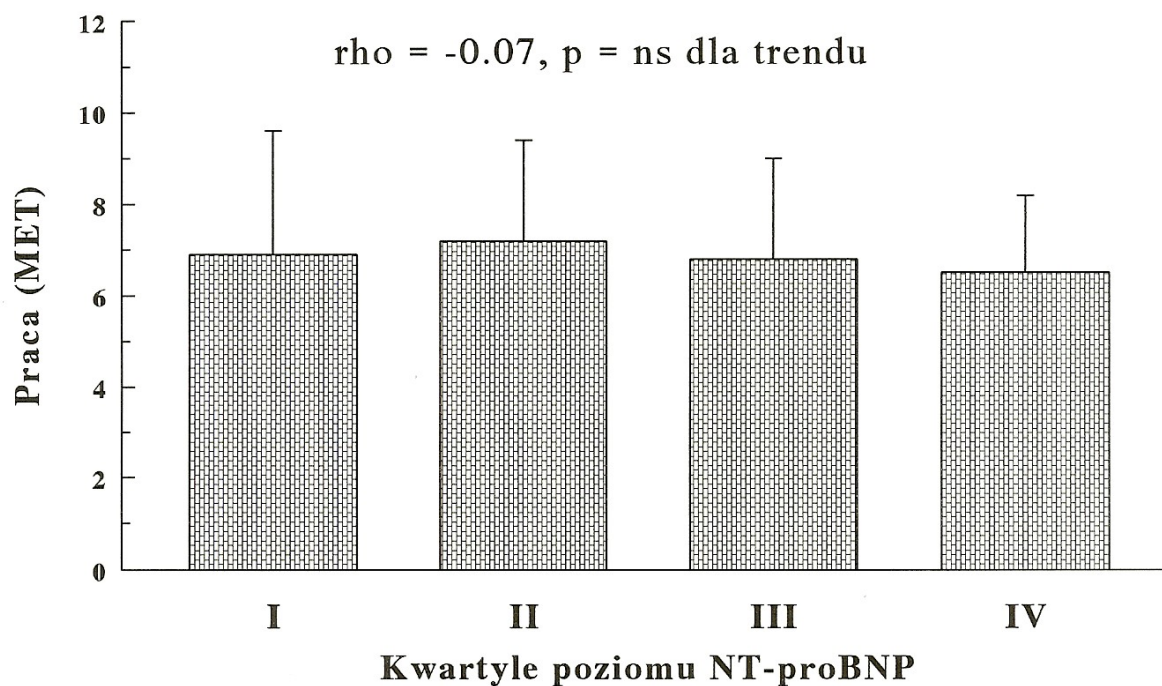
Tab. 5. Stężenie NT-proBNP a analizowane parametry uzyskane w trakcie testu wysiłkowego – wyniki analizy jednoczynnikowej dla całej grupy 100 badanych osób z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym

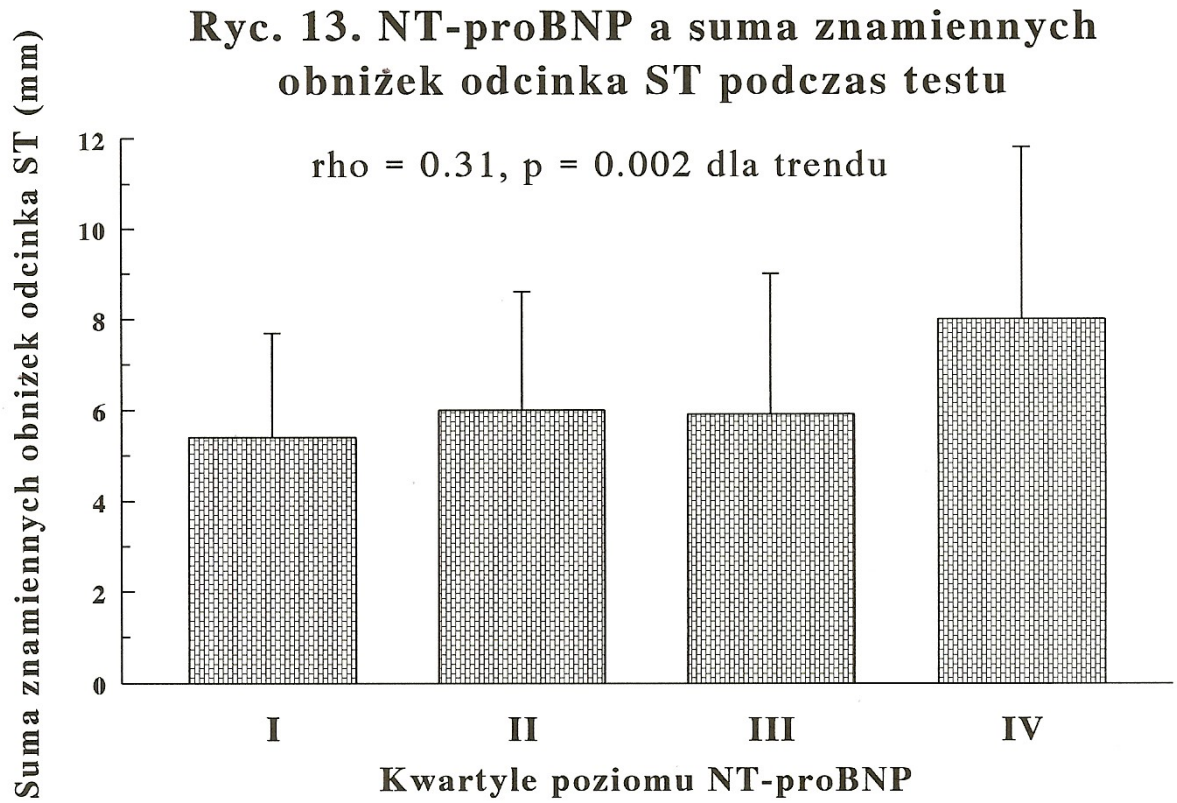
	r	p
Czas wysiłku	-0,02	ns
Osiągnięte obciążenie pracą	-0,03	ns
Suma znamienych obniżek odcinka ST	0,31	0,002

Ryc. 12A. NT-proBNP a czas wysiłku

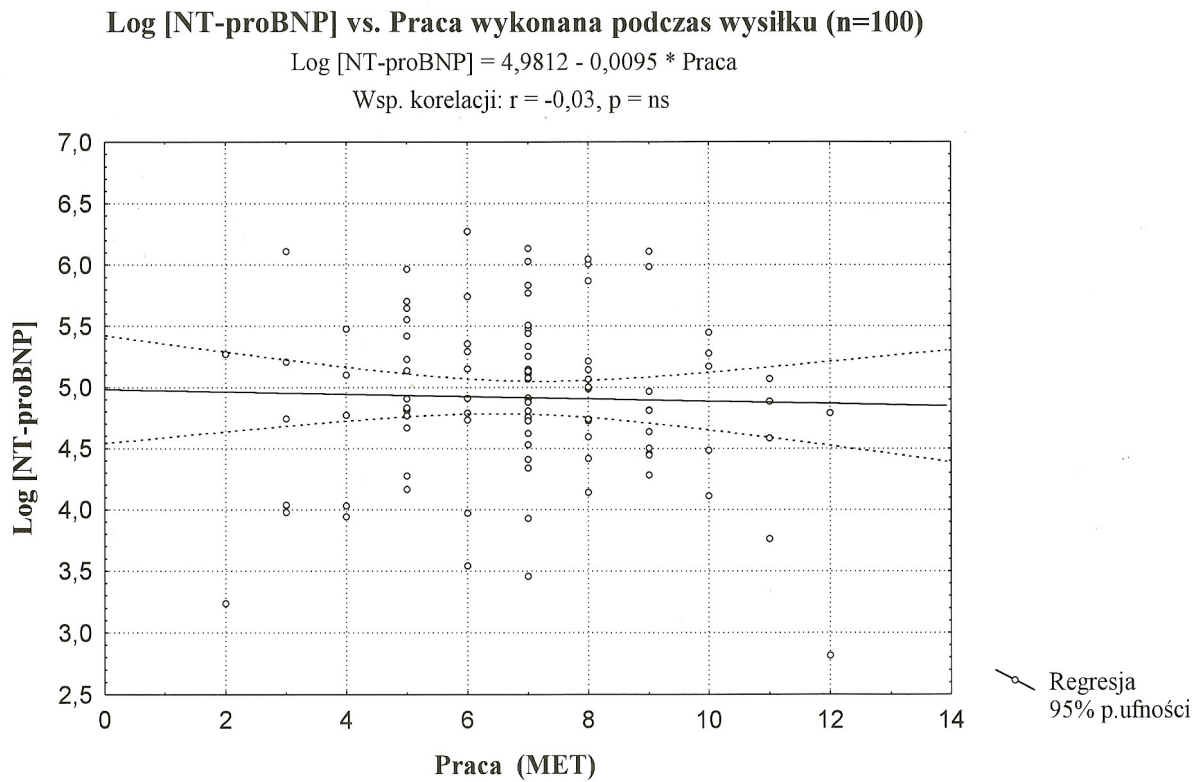


Ryc. 12B. NT-proBNP a praca wykonana podczas testu





Ryc. 14.

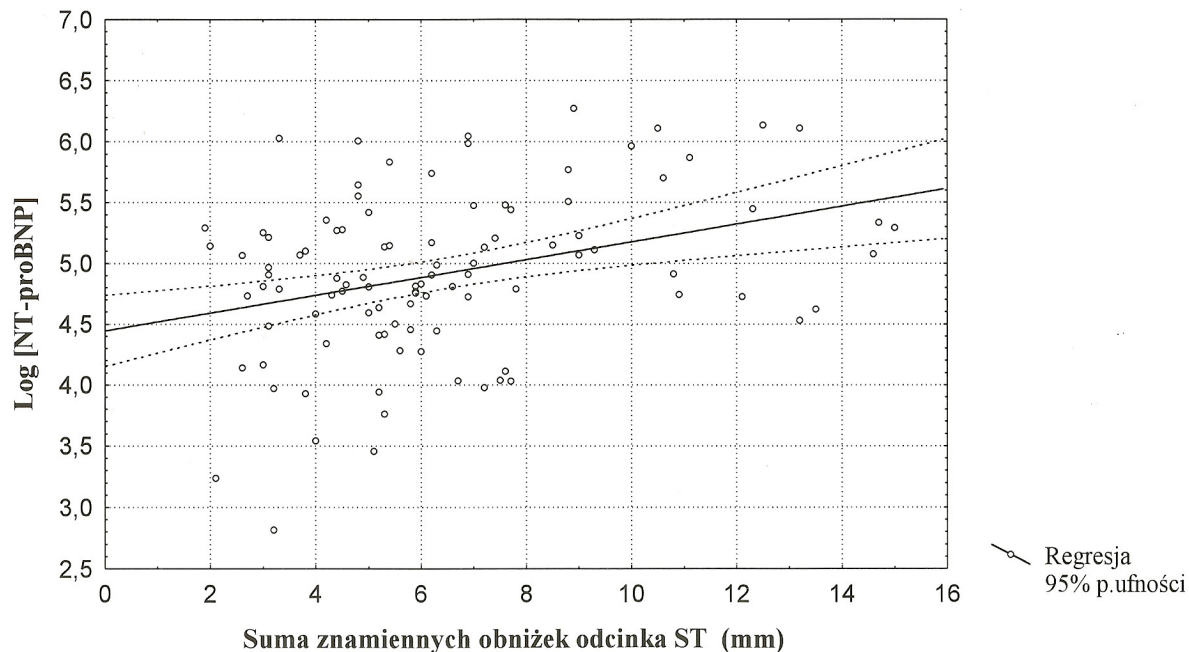


Ryc. 15.

Log [NT-proBNP] vs. Suma znamienych obniżek ST podczas testu (n=100)

$$\text{Log [NT-proBNP]} = 4,4448 + 0,07318 * \text{Suma znamienych obniżek odcinka ST}$$

Wsp. korelacji: $r = 0,31$, $p = 0,002$



4.4. Poziom NT-proBNP a charakterystyka badanych osób i wyniki testu wysiłkowego dla 60 mężczyzn, u których wykonano koronarografię

Powyższe analizy z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym powtórzono po ograniczeniu analizy do grupy 60 mężczyzn, u których została wykonana koronarografia.. Poza sumą znamienych obniżek odcinka ST podczas testu wysiłkowego oraz parametrami funkcji nerek, wśród zmiennych wykazujących istotną zależność z poziomem NT-proBNP pojawiła się rozległość zmian angiograficznych w tętnicach wieńcowych (Tab.6; Ryc.16,17).

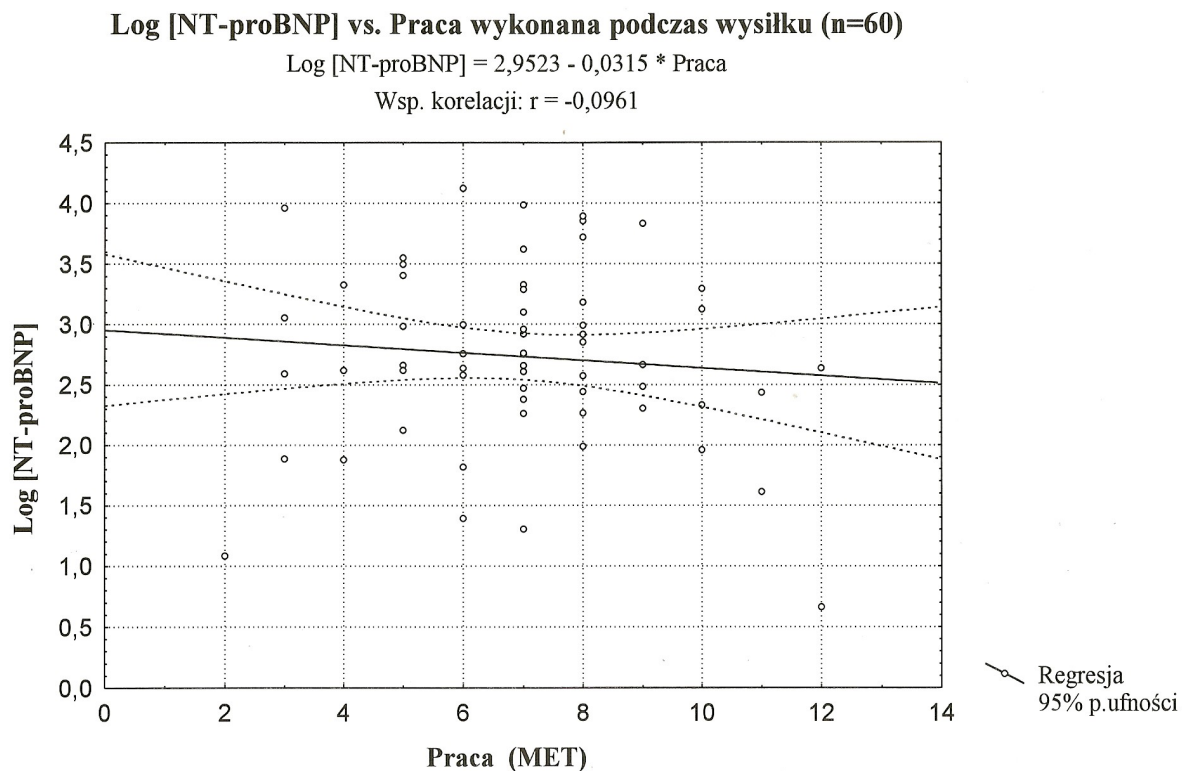
Tab. 6. NT-proBNP a charakterystyka pacjentów i wyniki testu wysiłkowego – analiza jednoczynnikowa z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym dla 60 mężczyzn, u których wykonano koronarografię

	r lub rho*	p
Wiek	0,14	ns
BMI	0,16	ns
Kreatynina	0,36	0,007
KKr	-0,36	0,008
EF	-0,05	ns
LVMI	0,20	0,13
Angiograficzna rozległość choroby wieńcowej ^a	0,49*	<0,0001
Czas wysiłku	-0,01	ns
Osiągnięte obciążenie pracą w czasie wysiłku	-0,10	ns
Suma znamienych obniżek odcinka ST	0,40	0,001

* rho zamiast r obliczono dla zaawansowania angiograficznego choroby wieńcowej

^a jako choroba 1-, 2- bądź 3- naczyniowa

Ryc. 16.

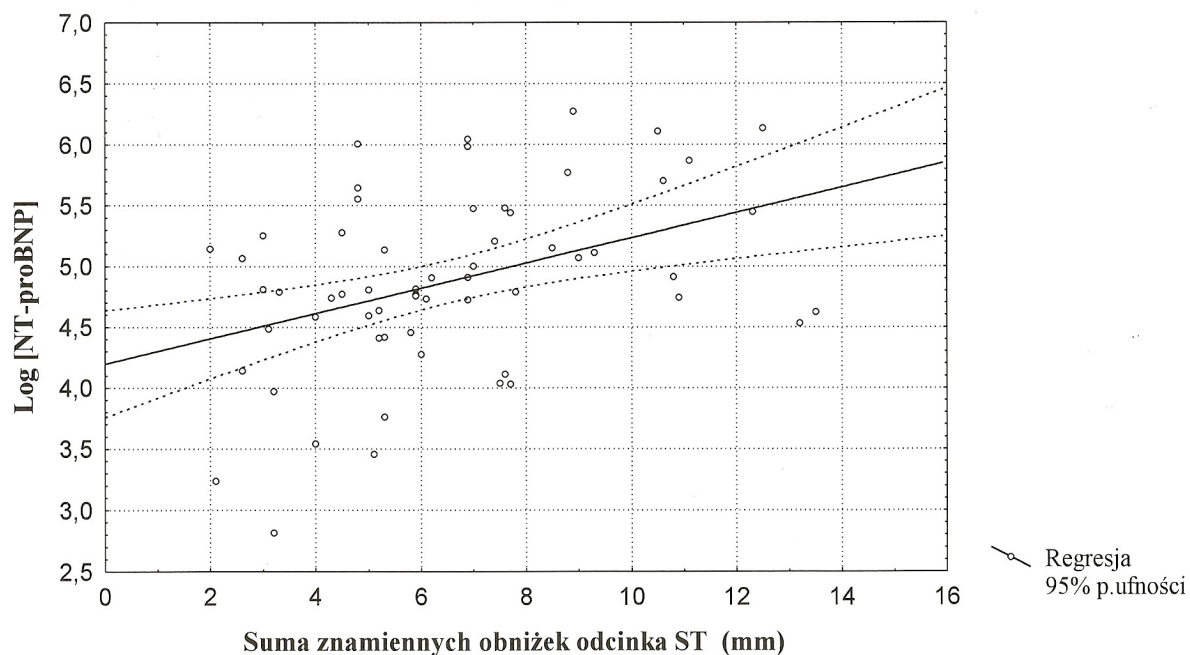


Ryc. 17.

Log [NT-proBNP] vs. Suma znamienych obniżek ST podczas testu (n=60)

$$\text{Log [NT-proBNP]} = 4,1970 + 0,10378 * \text{Suma znamienych obniżek odcinka ST}$$

Wsp. korelacji: $r = 0,40$, $p = 0,001$



4.5. Analiza wieloczynnikowa – zmienne wpływające na poziom NT-proBNP

Rozpatrując całą grupę 100 badanych osób za pomocą analizy wieloczynnikowej zidentyfikowano następujące parametry jako powiązane w sposób niezależny ze stężeniem NT-proBNP: sumę znamienych obniżek odcinka ST podczas testu wysiłkowego oraz KKr (Tab.7). W analizie tej nie uwzględniono rozległości zmian w tętnicach wieńcowych w koronarografii w związku z faktem, że koronarografię wykonano jedynie u 60 mężczyzn.

Tab. 7. Wyniki liniowej regresji wielokrotnej z krokowym doбором zmiennych dla całej grupy 100 badanych osób – parametry powiązane w sposób niezależny z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym

	$\beta \pm \text{SEM}$	p
Suma znamienych obniżek odcinka ST	$0,27 \pm 0,09$	0,004
KKr	$-0,20 \pm 0,09$	0,03

($R = 0,36$, $R^2 = 0,13$, $p = 0,001$, $n = 100$)

Po ograniczeniu analizy do 60 chorych, u których została wykonana koronarografia, wśród zmiennych powiązanych z poziomem NT-proBNP pojawiła się dodatkowo rozległość zmian

angiograficznych (Tab.8). W analizie wieloczynnikowej siła związku między stężeniem NT-proBNP a sumą obniżek odcinka ST podczas testu wysiłkowego oraz rozległością zmian angiograficznych była niższa (Tab.8) w porównaniu do powiązania tych zmiennych z NT-proBNP w analizie jednoczynnikowej (Tab.6). Dowodzi to osłabienia powyższych zależności po uwzględnieniu poprawki na zmienne, które znalazły się w końcowym równaniu regresji. Ponieważ stwierdzono istotną korelację zaawansowania zmian angiograficznych z sumą znamienych obniżek odcinka ST podczas testu wysiłkowego ($\rho = 0.28$, $p = 0.03$) oraz KKr ($\rho = -0,26$, $p = 0.04$), wskazuje to, że wyższy poziom NT-proBNP u chorych z większą rozległością zmian w koronarografii częściowo wynikał z interakcji między zaawansowaniem miażdżycy w tętnicach wieńcowych a tymi zmiennymi, częściowo zaś był od tych interakcji niezależny.

Tab. 8. Wyniki liniowej regresji wielokrotnej z krokowym doбором zmiennych po ograniczeniu analizy do 60 mężczyzn, u których została wykonana koronarografia – parametry powiązane w sposób niezależny z log [NT-proBNP] jako zmienną o charakterze ciągłym

	$\beta \pm \text{SEM}$	p
Angiograficzna rozległość ch. wieńcowej	$0,35 \pm 0,11$	0,002
Suma znamienych obniżek odcinka ST	$0,24 \pm 0,11$	0,03
KKr	$-0,21 \pm 0,11$	0,06

($R = 0.58$, $R^2 = 0,34$, $p < 0,0001$, $n = 60$)

5. DYSKUSJA

Podwyższone stężenie peptydów natriuretycznych typu B we krwi jest uznanym czynnikiem rokowniczym oraz użytecznym parametrem diagnostycznym w niewydolności serca. Mając na uwadze fizjologiczną regulację uwalniania tych peptydów, ich znaczenie jako markerów biochemicznych oznaczanych u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową bez dysfunkcji lewej komory nie jest już tak jednoznaczne, co znajduje odzwierciedlenie w liczbie doniesień naukowych podejmujących omawiane zagadnienie. W listopadzie 2007 roku, po wpisaniu do bazy danych PubMed hasła „*NT-proBNP*” ukazały się tytuły 1072 prac, podczas gdy na hasło odpowiadające tematowi niniejszej rozprawy sformułowane w sposób możliwie najbardziej szeroki, a mianowicie „*NT-proBNP and (stable angina OR stable coronary heart disease OR stable coronary artery disease)*”, odpowiedziało jedynie 30 cytowań, z czego 2 pozycje stanowiły prace poglądowe.

5.1. Peptyd natriuretyczny typu B a niedokrwienie *myocardium* w stabilnej chorobie wieńcowej

Kragelund i wsp. [2005] oceniała przydatność oznaczania stężenia NT-proBNP, jako czynnika ryzyka zgonu w populacji 1034 pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową poddanych diagnostyce koronarograficznej. Grupa ta, podobnie jak chorzy w niniejszej rozprawie, składała się w ponad 70% z mężczyzn, zaś ich mediana wieku wynosiła 58 lat. Wartości mediany stężeń NT-proBNP stwierdzone przez Kragelund i wsp. (169 pg/ml) były jedynie nieco wyższe od stwierdzanych w obserwowanej przez mnie populacji (135,0 pg/ml). Podobnie jak w niniejszej rozprawie, obserwowano znamiennej zależność stężenia NT-proBNP od klirensu endogennej kreatyniny oraz stopnia zaawansowania ocenianych angiograficznie zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych. W omawianym doniesieniu nie wykazano istotnej zależności pomiędzy wystąpieniem dodatniego wyniku elektrokardiograficznej próby wysiłkowej a wyjściowym stężeniem NT-proBNP. Autorzy stwierdzili natomiast związek pomiędzy stężeniem NT-proBNP a podawanym przez chorego nasileniem dolegliwości stenokardialnych ocenianych wg klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego. Kragelund i wsp. zaproponowali, że mogło to wynikać z powtarzających się, przemijających epizodów niedokrwienia mięśnia sercowego, które najprawdopodobniej występowały częściej i obejmowały większy obszar *myocardium* u pacjentów z bardziej nasilonymi zmianami w tętnicach wieńcowych. W okresie średnio 9-letniej obserwacji cytowani autorzy ci stwierdzili

istotną zależność całkowitego ryzyka zgonu od wyjściowego stężenia NT-proBNP, niezależną od innych czynników ryzyka, w tym EF i ciśnienia końcoworozkurczowego w lewej komorze, a zatem po uwzględnieniu poprawki na parametry powiązane z czynnością skurczową i rozkurczową lewej komory. Należy podkreślić, że przedstawiony efekt prognostyczny utrzymywał się po ograniczeniu analizy do 354 pacjentów z EF $\geq 60\%$ i obecnością istotnych zwężeń w koronarografii, a zatem porównywalnych do pacjentów w niniejszej rozprawie.

W/wym. konkluzja (hipotetyczny związek podwyższonego poziomu NT-proBNP z powtarzającymi się epizodami niedokrwienia) pojawiła się również jako element dyskusji w pracy Bibbins-Domingo i wsp. (2003). Badacze ci analizowali podgrupę chorych uczestniczących w badaniu *Heart and Soul Study*. Kryterium kwalifikujące do w/wym. badania stanowiła obecność co najmniej jednej z następujących cech: przebyty zawał serca, obecność $\geq 50\%$ zwężenia tętnicy wieńcowej w koronarografii, cechy odwracalnego niedokrwienia *myocardium* w teście obciążeniowym, zabieg rewaskularyzacji wieńcowej w wywiadzie. W podgrupie 206 chorych po przebytym zawale serca stwierdzono ok. 2-krotnie wyższy poziom BNP u pacjentów z dodatnim wynikiem echokardiografii obciążeniowej z zastosowaniem wysiłku fizycznego jako bodźca prowokującego niedokrwienie. W/wym. zależność utrzymywała się po ograniczeniu analizy do 48 chorych z EF lewej komory poniżej 55%. Zatem można przypuszczać, że dysfunkcja skurczowa lewej komory nie była czynnikiem odpowiedzialnym za powyższe zależności, co pozwala przeprowadzić analogię z niniejszą rozprawą, gdzie chorzy z obniżoną kurczliwością lewej komory zostali wyłączeni z badań. Ponadto Bibbins-Domingo i wsp. (2003) stwierdzili, że w/wym. związek ulegał jedynie nieznacznemu osłabieniu po uwzględnieniu poprawki na wartość EF oraz echokardiograficzne cechy dysfunkcji rozkurczowej lewej komory w warunkach spoczynkowych. W niniejszej rozprawie kolejne kryteria wykluczające stanowiły cechy zaburzeń funkcji rozkurczowej lewej komory w badaniu echokardiograficznym, z także obecność przerostu lewej komory usposabiającego do wybiórczego wystąpienia dysfunkcji rozkurczowej; dla obu tych czynników wykazano związek z podwyższeniem poziomu natriuretycznych typu B [Lubien et al., 2002; Uusimaa et al., 2004; Tschoepe et al., 2005; Dong et al., 2006]. Można zatem sądzić, iż niedokrwienie stymuluje generację BNP zarówno pośrednio (poprzez dysfunkcję lewej komory), jak i bezpośrednio (czyli niezależnie od zmiany parametrów hemodynamicznych). Można wprawdzie argumentować, że stosowane w badaniach Bibbins-Domingo i wsp. (2003) tradycyjne parametry sugerujące obecność dysfunkcji rozkurczowej lewej komory na podstawie analizy przepływu przez zastawkę mitralną i przepływu w żyłach płucnych nie odzwierciedlają

w sposób wystarczająco dokładny zaburzeń rozkurczu [Yesil i wsp., 2006]. Jednakże niezależnie od dyskusji na temat optymalizacji technik echokardiograficznych, wydaje się bezsporne, że stwierdzenie podwyższonego ciśnienia końcoworozkurczowego w lewej komorze pozwala w sposób wiarygodny zidentyfikować chorych, u których pomimo prawidłowej kurczliwości lewej komory dochodzi do jej dysfunkcji rozkurczowej, a tym samym do wzrostu naprężenia jej ściany, stanowiącego bodziec do sekrecji BNP. Zatem, o ile w analizie wieloczynnikowej dotyczącej wartości prognostycznej oznaczenia peptydów natriuretycznych zostanie uwzględniona poprawka na wartość EF i ciśnienia końcoworozkurczowego, można przyjąć, że wzięto pod uwagę oba typy dysfunkcji lewej komory. Jeżeli wówczas związek podwyższonego poziomu BNP/NT-proBNP z niekorzystnym rokowaniem zostanie utrzymany, oznacza to, że najprawdopodobniej inne czynniki (np. wzmożona generacja w/wym. peptydów w niedokrwionym *myocardium*) odpowiadają za przedstawioną zależność. Istotnie, kilka niezależnych grup badawczych wykazało utrzymywanie się niezależnego efektu prognostycznego BNP [Omland et al., 2005] bądź NT-proBNP [Kragelund et al., 2005; Maerz et al., 2007; Bibbins-Domingo et al., 2007] w stabilnej chorobie wieńcowej po uwzględnieniu w analizie wieloczynnikowej szerokiego zestawu zmiennych, w tym EF i ciśnienia końcoworozkurczowego w lewej komorze. Wydaje się zatem, że powyższe wyniki oraz cytowane wcześniej dane uzyskane przez Bibbins-Domingo i wsp. (2003) mają wspólną przyczynę, a mianowicie fakt, iż do podwyższenia poziomu BNP oraz NT-proBNP dochodzi także u chorych z prawidłową funkcją skurczową i rozkurczową lewej komory, o ile w toku codziennej aktywności występują u nich częste epizody niedokrwienia mięśnia serca, także o charakterze bezobjawowym.

Pierwsze badania kliniczne wskazujące na związek podwyższonego poziomu BNP we krwi z epizodami indukowanego niedokrwienia pochodzą sprzed ponad 10 lat. Po obciążeniu wysiłkiem Marumoto i wsp. (1995) stwierdzili znamienne przyrosty poziomu BNP w osoczu krwi u chorych z dusznicą bolesną, podczas gdy w grupie kontrolnej poziom hormonu pozostawał niezmienny. Przejściowy wzrost stężenia krążącego BNP stwierdzono także w innej sytuacji klinicznej związanym z krótkotrwałym niedokrwieniem, a mianowicie bezpośrednio po przezskórnej angioplastyce balonowej związanej z przejściowym zablokowaniem przepływu krwi [Kyriakides et al., 2000; Tateishi et al., 2000]. W tym ostatnim przypadku zmiana poziomu BNP nie była powiązana z parametrami hemodynamicznymi, w tym ciśnieniem końcoworozkurczowym w lewej komorze, co wskazuje na bezpośredni wpływ bodźca niedokrwiennego [Tateishi et al., 2000] niezależnie od upośledzenia funkcji rozkurczowej, które w warunkach niedokrwienia poprzedza dysfunkcję skurczową [Pouleur,

1990]. Natomiast u chorych z kardiomiopatią przerostową Nakamura i wsp. (2002) zaobserwowali nasilone zwwyżki poziomu BNP po wysiłku w przypadku, gdy obciążenie wywoływało odwracalne odcinkowe niedokrwienie *myocardium* w scyntygrafii perfuzyjnej. Co więcej, w w/wym. podgrupie chorych obserwowano podwyższenie wyjściowego stężenia BNP w porównaniu do z kardiomiopatią przerostową bez indukowanego wysiłkiem niedokrwienia mięśnia serca. Prace opublikowane w późniejszych latach dowiodły, że również w chorobie wieńcowej poziomy BNP bądź NT-proBNP w warunkach spoczynkowych są wyższe u tych pacjentów, u których można sprowokować niedokrwienie *myocardium* w testach obciążeniowych, co zależy od wpływu niedokrwienia na ekspresję genów kodujących BNP.

W roku 2003 ukazała się publikacja dowodząca wzmożonej ekspresji genu kodującego BNP w niedokrwionym *myocardium* u 12 chorych z prawidłową funkcją skurczową lewej komory poddanych operacji rewaskularyzacji chirurgicznej [Goetze et al., 2003]. Analizowano mianowicie obszary mięśnia serca, w których stwierdzono śródoperacyjnie obniżone ciśnienie parcjalne tlenu. Okazało się, że ekspresja mRNA dla BNP była w powyższych obszarach podwyższona w stopniu skorelowanym ze stężeniem BNP i NT-proBNP w osoczu krwi, przy czym istotność statystyczna utrzymywała się nawet wtedy, gdy analizę ograniczono do 8 pacjentów, u których pomiary BNP i NT-proBNP we krwi przeprowadzono w okresie okołoperacyjnym. Ponadto poziom BNP u 12 chorych kwalifikowanych do rewaskularyzacji chirurgicznej oraz 10 chorych przed rewaskularyzacją przezskórną (średnia EF >50%) sięgał stężeń mierzonych w grupie 13 pacjentów z kardiomiopatią rozstrzeniową (średnia EF ok. 20%) i był zwiększony ok. 5-krotnie (BNP) oraz 8–10-krotnie (NT-proBNP) w stosunku do grupy kontrolnej [Goetze et al., 2003]. W związku z faktem, że u wszystkich powyższych 23 pacjentów z chorobą niedokrwinną serca kwalifikowanych do rewaskularyzacji stwierdzono cechy odwracalnego niedokrwienia *myocardium* w badaniach nieinwazyjnych podczas obciążenia wysiłkiem, sformułowano hipotezę, że czynnikiem odpowiedzialnym za nadmierną ekspresję genu dla BNP w kardiomiocytach lewej komory tych pacjentów mogły być powtarzalne epizody niedokrwienia mięśnia serca. Podobny wniosek wysnuli Rueck i wsp. (2004), którzy stwierdzili średnio 23-krotne podwyższenie ekspresji genu dla BNP w obszarach *myocardium* wykazujących odwracalne niedokrwienie w obciążeniowej scyntygrafii perfuzyjnej w porównaniu do kontrolnych biopsji lewej komory z segmentów nie wykazujących niedokrwienia u 5 pacjentów poddanych operacji pomostowania aortalno-wieńcowego.

W 2004 roku Goetze i wsp. wykazali w pracy eksperymentalnej, że wywołane chirurgicznie ograniczone niedokrwienie (nie doprowadzające do pojawienia się martwicy)

prowadziło do szybkiego wzrostu ekspresji genu dla BNP w kardiomiocytach serca świni. Co więcej, spadek ciśnienia parcjalnego tlenu stymulował ekspresję genu BNP w hodowli kardiomiocytów *in vitro* [Goetze et al., 2004]. Z kolei Hopkins i wsp. (2004) dowiedli, że hipoksja jest bezpośrednim stymulatorem uwalniania ANP i BNP z badanych *in vitro* ludzkich kardiomiocytów przedsionków serca, co stanowi najbardziej prawdopodobną przyczynę stwierdzonego również przez tych autorów wielokrotnego podwyższenia poziomów tych peptydów natriuretycznych w osoczu krwi chorych z wrodzonymi sinicznymi wadami serca pomimo niskich ciśnień napełniania komór [Hopkins & Hall, 1997; Hopkins et al., 2004]. Poszukując mechanizmu odpowiedzialnego za wzmożone tworzenie peptydów natriuretycznych w warunkach niedokrwienia, wykazano, że ekspresja genu dla ANP [Chun et al., 2003] oraz BNP [Luo et al., 2006] pozostaje pod kontrolą specyficznego białka, tzw. czynnika indukowanego przez hipoksję (HIF-1, *hypoxia-inducible factor-1*).

Przedstawione prace stanowią uzasadnienie licznych obserwacji dowodzących, że pacjenci z chorobą niedokrwinną serca i cechami odwracalnego niedokrwienia w scyntygrafii perfuzyjnej serca wykazywali równolegle podwyższenie zarówno wyjściowego poziomu omawianych peptydów natriuretycznych, jak i większe przyrosty ich stężeń po wysiłku względem chorych z prawidłowym wynikiem badania perfuzji *myocardium* [Sabatine et al., 2004; Foote et al., 2004; Palumbo et al., 2004; Staub et al., 2005; Zaid et al., 2007]. Związek spoczynkowego poziomu dla BNP/NT-proBNP z dodatnim wynikiem testów obciążeniowych stwierdzono także dla echokardiografii wysiłkowej [Bibbins-Domingo et al., 2003] oraz echokardiografii z zastosowaniem dobutaminy [Asada et al., 2004].

Natomiast w przypadku elektrokardiograficznej próby wysiłkowej wyniki dostępnych publikacji u chorych ze stabilną dusznicą bolesną nie są jednoznaczne. Weber i wsp. (2004) nie zaobserwowali znamiennych różnic w spoczynkowym poziomie NT-proBNP, gdy kryterium podziału badanych chorych na podgrupy był wynik elektrokardiograficznej próby wysiłkowej, podczas gdy różnica ta ujawniła się, gdy jako kryterium przyjęto wynik scyntygrafii perfuzyjnej bądź obecność istotnych zwężeń w koronarografii. Z kolei Zaid i wsp. (2007) obserwowali wyższe wyjściowe poziomy BNP i ich przyrosty po wysiłku niezależnie od tego, którym z w/wym. kryteriów posłużono się celem wyodrębnienia podgrup. Jednakże w cytowanej pracy zakres powyższych różnic i ich znamienność statystyczna dla spoczynkowego stężenia BNP okazały się wyraźnie niższe, gdy podgrupy wyodrębniono na podstawie wyniku EKG wysiłkowego. Wydaje się, iż przyczyną omawianych niejednoznaczności jest znany fakt rozbieżności między wystąpieniem niedokrwienych zmian odcinka ST a ujawnieniem się odwracalnego niedokrwienia w scyntygrafii perfuzyjnej w warunkach obciążenia wysiłkiem, co

pokazali także autorzy obu diskutowanych publikacji [Weber et al., 2004; Zaid et al., 2007]. W niniejszej rozprawie u wszystkich chorych w trakcie próby wysiłkowej wystąpiły obniżki odcinka ST odpowiadające dodatniemu wynikowi testu, zaś w analizie danych skupiłam się na wartości sumy tych obniżek. Zatem z badania zostali *a priori* wyłączeni pacjenci z ujemnym wynikiem próby, a tym samym przypadki ewentualnych wyników fałszywie ujemnych (czyli z istotnymi zwężeniami w koronarografii pomimo ujemnego wyniku elektrokardiograficznej próby wysiłkowej), które w znacznej mierze odpowiadają za rozbieżności między elektrokardiografią wysiłkową a scyntyografią perfuzyjną z powodu niedostatecznej czułości zapisu EKG, zwłaszcza w przypadku choroby 1-naczyniowej [Morrow et al., 2005a]. Nie da się natomiast wykluczyć, że u niektórych pacjentów wynik próby był fałszywie dodatni. Niemniej jednak istnieją przesłanki, że mogło to dotyczyć jedynie znikomej liczby chorych, a co najważniejsze najprawdopodobniej nie wpłynęło to w sposób decydujący na wnioski z niniejszej rozprawy. Po pierwsze, wyniki nie uległy zmianie, gdy analizę ograniczono do 60 chorych, u których w koronarografii stwierdzono obecność istotnych zwężeń. Natomiast u pozostałych 40 osób w trakcie próby wysiłkowej wystąpiły – poza niedokrwiennymi obniżkami odcinka ST – także typowe dolegliwości dławicowe, co zaznaczono w opisie metodologii, którą posłużono się w niniejszej rozprawie. Jak wiadomo, w takiej sytuacji klinicznej (znamienne obniżenie odcinka ST i typowe dolegliwości dławicowe podczas wysiłku) pozytywna wartość predykcyjna testu wysiłkowego w aspekcie wykrywania znamiennych zmian w koronarografii wynosi ok. 90% [Morrow et al., 2005a]. Wydaje się zatem, że zmiany odcinka ST w trakcie wysiłku w grupie badanej w obecnej rozprawie odzwierciedlają niedokrwienie *myocardium* w przebiegu choroby niedokrwiennej serca na podłożu miażdżycowym. Można założyć, że suma tych obniżek niesie informację o wielkości obszaru niedokrwienia i jego nasileniu. Analogiczny parametr jako jedną z miar niedokrwienia zastosowano w badaniu ACIP, które wykazało m.in. poprawę tolerancji wysiłku po rewaskularyzacji u pacjentów z chorobą niedokrwieną serca i obecnością co najmniej jednego zwężenia w koronarografii przekraczającego 50%, dodatnim wynikiem testu wysiłkowego i co najmniej 1 epizodem cichego niedokrwienia w 48-godzinym zapisie EKG [Rogers et al., 1995].

W oparciu o powyższe rozważania wydaje się zatem, że powiązanie spoczynkowego poziomu NT-proBNP z wartością sumy maksymalnych obniżek odcinka ST w teście wysiłkowym stanowi kolejny argument na rzecz tezy o znaczeniu nasilenia i wielkości obszaru niedokrwienia dla wzmożonej ekspresji genu dla BNP. Istotnie, poziomy BNP/NT-proBNP w spoczynku [Weber et al. 2004; Sabatine et al., 2004; Foote et al., 2004; Palumbo et al., 2004; Zaid et al., 2007] oraz ich przyrosty podczas wysiłku [Marumoto et al., 1995; Sabatine et al.,

2004; Foote et al., 2004; Staub et al., 2005; Zaid et al., 2007] korelowały dodatnio z rozległością strefy odwracalnego niedokrwienia [Weber et al., 2004; Palumbo et al., 2004], ciężkością zaburzeń perfuzji [Marumoto et al., 1995; Sabatine et al., 2004; Zaid et al., 2007], a także z wartością wskaźnika integrującego wielkość niedokrwionego obszaru ze stopniem odwracalnej redukcji perfuzji [Foote et al., 2004; Staub et al., 2005]. Dodatkowo za znaczeniem bodźca niedokrwionego we wzmożonej generacji NT-proBNP w stabilnej dusznicy bolesnej przemawia spadek jego poziomu 24 h po wykonaniu przezskórnej angioplastyki wieńcowej w porównaniu ze stężeniem przed zabiegiem [Kalra et al., 2004]. Ostatnio podobny wynik uzyskali McClure i wsp. (2007), stwierdzając redukcję poziomu NT-proBNP 8 tygodni po angioplastyce u chorych ze stabilną dusznicą i zachowaną kurczliwością lewej komory.

Wydaje się, że koncepcja przetrwałego podwyższenia stężenia peptydów natriuretycznych z powodu powtarzających się incydentów niedokrwienia mięśnia serca znajduje szczególne uzasadnienie dla NT-proBNP z powodu jego własności farmakokinetycznych. Okres półtrwania NT-proBNP w osoczu krwi wynosi ok. 2 h, zaś w przypadku BNP jedynie ok. 20 min. [Silver et al., 2004]. Sabatine i wsp. (2004) z grupy E. Braunwalda porównali wpływ wysiłku fizycznego na poziom BNP i NT-proBNP u chorych ze stabilną dusznicą bolesną wykazujących obecność łagodnych bądź umiarkowanych odwracalnych zaburzeń perfuzji po wysiłku. Stężenie BNP rosło kilka minut po wysiłku, jednak wracało do wartości wyjściowych po 4 h. Natomiast w przypadku NT-proBNP przyrosty jego poziomu we krwi bezpośrednio po wysiłku były wprawdzie słabsze, jednak podwyższone stężenie tego peptydu (w porównaniu z wartościami spoczynkowymi) utrzymywało się praktycznie na tym samym poziomie także 4 h po zakończeniu testu. Biorąc pod uwagę przedstawione dane [Sabatine et al., 2004], a także znany fakt, że poziom NT-proBNP zwykle wielokrotnie przewyższa stężenia BNP (w cytowanej publikacji 2,3–3 krotnie), można założyć, iż NT-proBNP jest w mniejszym niż BNP stopniu podatny na krótkoterminowe wahania, natomiast wykazuje związek z epizodami niedokrwienia poprzedzającymi pobranie krwi nawet o kilka godzin. Stosunek stężeń NT-proBNP do BNP jest w jeszcze większym stopniu podwyższony u chorych z dysfunkcją skurczową lewej komory. Richards i wsp. (2006) stwierdzili, że w/wym. stosunek przekraczał 10 u 1049 pacjentów ze stabilną chorobą niedokrwioną serca ze średnią EF $46 \pm 14\%$, w większości po przebytych zawałach. Można zatem przypuszczać, że wobec wielokrotnie wyższego stężenia NT-proBNP, ewentualne zmiany w jego sekrecji są relatywnie trudniejsze do wykrycia, jednak o ile bodziec stymulujący generację BNP utrzymuje się przez dłuższy okres czasu (np. przy nawracających epizodach

niedokrwienia), mają one charakter bardziej stabilny niż w przypadku BNP o krótkim okresie półtrwania.

Relację między peptydami natriuretycznymi typu B a stopniem obniżek odcinka ST podczas testu wysiłkowego badano w pracy, którą wykonano w Wojskowym Instytucie Medycznym w Warszawie [Piechota et al., 2006]. W badaniach obejmujących 21 pacjentów z elektrokardiograficznymi cechami niedokrwienia mięśnia serca podczas wysiłku i 20 pacjentów z ujemnym wynikiem testu wysiłkowego, odnotowano istotną korelację między przyrostem stężenia NT-proBNP w czasie wysiłku a wyjściowym poziomem NT-proBNP ($r = 0,54$; $p = 0,0003$), indukowanym wysiłkiem obniżeniem odcinka ST ($r = 0,38$; $p = 0,01$), stężeniem kreatyniny w surowicy ($r = 0,34$; $p = 0,03$) oraz przebyłym zawałem serca w wywiadzie ($p = 0,004$). Jednakże – w przeciwieństwie do niniejszej rozprawy – zależność między NT-proBNP a niedokrwieniami zmianami odcinka ST stała się nieistotna w analizie wieloczynnikowej, gdy jedynym czynnikiem powiązany w sposób niezależny z podwyższonym stężeniem NT-proBNP okazał się przebyty zawał. Możliwym wytłumaczeniem przedstawionej niezgodności jest hipoteza, że przebyty zawał serca był prawdopodobnie na tyle silnym czynnikiem oddziałującym zarówno na poziom NT-proBNP, jak i wynik testu wysiłkowego, że inne czynniki nie zostały wychwycone przez analizę statystyczną w tej stosunkowo nielicznej grupie chorych. Ponieważ w obecnej pracy posłużono się rozbudowanymi kryteriami wyłączającymi z badań (m.in. żadna z osób badanych nie przeżyła zawału), sprzyjało to ujawnieniu korelacji nieobecnych w publikacjach, w których nie zastosowano tak szerokiego zakresu kryteriów wykluczających.

Kolejnym dowodem na istotność sposobu doboru badanej grupy są wyniki uzyskane przez autorów tureckich. Yesil i wsp. (2006) obserwowali grupę 87 pacjentów (w tym 62 mężczyzn) w wieku $57 \pm 8,5$ lat z objawami stabilnej choroby wieńcowej, dodatnim wynikiem próby wysiłkowej oraz prawidłową funkcją skurczową i rozkurczową lewej komory (na podstawie analizy parametrów przepływu mitralnego), u których wykonano badanie angiograficzne tętnic wieńcowych. Autorzy wyodrębnili 2 podgrupy pacjentów: w pierwszej z nich (liczącej 32 osoby) parametry funkcji rozkurczowej były prawidłowe zarówno dla wskaźników tradycyjnych, jak i wczesnorozkurczowej prędkości maksymalnej ruchu pierścienia zastawki mitralnej ocenianej za pomocą dopplera tkankowego, natomiast w drugiej podgrupie (obejmującej 55 pozostałych pacjentów) stwierdzono jej zaburzenia metodą dopplera tkankowego przy prawidłowym profilu przepływu mitralnego. W pierwszej podgrupie wszyscy pacjenci z poziomem NT-proBNP ponad 100 pg/ml wykazywali obecność co najmniej jednego

istotnego zwężenia w głównych naczyniach wieńcowych, podczas gdy analogiczny odsetek wynosił jedynie 60% w podgrupie drugiej. Dowodzi to znaczenia wpływu kryteriów wykluczających na końcowy wynik analizy zmiennych powiązanych z poziomem peptydów natriuretycznych; w tym przypadku uwidoczniła się istotność metodologii identyfikacji pacjentów z dysfunkcją rozkurczową lewej komory. Dodatkowo wzmacnia to wyniki uzyskane w niniejszej rozprawie, w której u wszystkich chorych wykluczono zaburzenia czynności rozkurczowej lewej komory na podstawie oceny konwencjonalnych parametrów przepływu mitralnego, a ponadto u prawie połowy badanych posłużono się dodatkowo obrazowaniem za pomocą dopplera tkankowego.

5.2. Peptyd natriuretyczny typu B a rozległość miażdżycy tętnic wieńcowych i klirens endogennej kreatyniny

W niniejszej rozprawie, w podgrupie 60 chorych, u których wykonano ocenę angiograficzną, stwierdzono zależność stężenia NT-proBNP od liczby krytycznych zwężeń w tętnicach wieńcowych – poza obserwowanym także w całej grupie 100 pacjentów związkiem poziomu hormonu z sumą niedokrwiennych obniżek odcinka ST w trakcie próby wysiłkowej oraz z klirensem endogennej kreatyniny (KKr). Związek poziomu NT-proBNP z zaawansowaniem zmian angiograficznych w koronarografii oraz z obniżeniem KKr był obserwowany także w poprzednio cytowanej publikacji Kragelund i wsp. (2005) obejmującej grupę 1034 pacjentów. W kolejnej pracy dotyczącej NT-proBNP w w/wym. grupie chorych Kragelund i wsp. [2006] szerzej rozwinęli zagadnienie związku stężenia NT-proBNP z zaawansowaniem zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych. W uzupełnieniu swojej wcześniejszej pracy [Kragelund et al., 2005], gdzie dokonano podziału jedynie na chorobę wieńcową 1, 2- i 3-naczyniową, cytowani autorzy dodatkowo wprowadzili bardziej szczegółowe wskaźniki ilościowej oceny zmian obserwowanych w angiografii. Jednakże niezależnie od sposobu kwantyfikacji zwężeń stwierdzonych w koronarografii, obserwowano statystyczną zależność między poziomem NT-proBNP a zaawansowaniem zmian miażdżycowych oraz KKr. Z drugiej zaś strony, czułość i specyficzność podwyższenia NT-proBNP powyżej 125 pg/ml wynosiły odpowiednio jedynie 61 i 60% w aspekcie identyfikacji chorych z istotnymi zwężeniami w koronarografii, zaś w podsumowaniu autorzy stwierdzili, że

NT-proBNP nie jest wartościowym badaniem przesiewowym przy podejrzeniu takich zmian u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową. Poza omawianą pozycją piśmiennictwa, także inne doniesienia potwierdzają wzrost poziomu NT-proBNP wraz z zaawansowaniem miażdżycy tętnic wieńcowych w stabilnej chorobie wieńcowej [Nishikimi et al., 2004; Weber et al., 2004; Ndrepepa et al., 2005; Palazzuoli et al., 2005; Omland et al., 2005; Schnabel et al., 2005; Rothenbacher et al., 2006].

Analiza wieloczynnikowa wykonana w omawianej podgrupie chorych potwierdziła niezależny związek poziomu NT-proBNP ze zmianami odcinka ST i zaawansowaniem zmian w koronarografii, jednakże siła w/wym. zależności uległa osłabieniu (jakkolwiek bez utraty znamienności statystycznej) po uwzględnieniu poprawki na pełny zestaw zmiennych, które znalazły się w końcowym równaniu regresji, w tym KKr. Zatem związek ten nie był wyłącznie wtórny do znanego faktu większego zaawansowania miażdżycy w obecności nawet niewielkiego upośledzenia czynności nerek [Sarnak et al., 2003; Zebrack et al., 2003; Anavekar et al., 2004], co mogłoby usposabiać do większego nasilenia niedokrwiennych zmian EKG w trakcie próby wysiłkowej. Można więc stwierdzić, że u pacjentów z wielonaczyniową chorobą wieńcową podwyższenie poziomu NT-proBNP było częściowo zależne od większego nasilenia niedokrwiennych zmian odcinka ST w trakcie próby wysiłkowej oraz tendencji do niższych wartości KKr, częściowo jednak miało charakter niezależny od wysiłkowego niedokrwienia *myocardium* oraz dysfunkcji nerek. Oznacza to, że inne czynniki przyczyniały się także do podwyższenia poziomu NT-proBNP, które u 63 na 100 chorych w niniejszej rozprawie przekraczało poziom 95-go percentyla wyznaczonego dla zdrowych osób w wieku 55–64 lat na 88 pg/ml dla mężczyzn i 226 pg/ml u kobiet [Costello-Boerrigter i wsp., 2006]. Należy zaznaczyć, że Costello-Boerrigter i wsp. (2006) wyznaczyli powyższy zakres wartości prawidłowych przy zastosowaniu identycznej metody oznaczenia NT-proBNP (zestaw Elecsys firmy *Roche Diagnostics*) w grupie 746 zdrowych osób bez cech dysfunkcji skurczowej ani rozkurczowej lewej komory w echokardiografii, co pozwoliło wyeliminować przypadki, gdy zaburzenia te przebiegały bezobjawowo. Biorąc pod uwagę fakt, że w obecnej pracy kryteria wykluczające z badań obejmowały dysfunkcję skurczową, rozkurczową i przerost mięśnia lewej komory, wysunięto hipotezę, że obecność procesu miażdżycowego może stymulować generację BNP także na drodze mechanizmów alternatywnych do zaburzeń funkcji lewej komory oraz niedokrwienia *myocardium*. Na obecność takich mechanizmów wskazuje publikacja Casco i wsp. (2002), którzy stwierdzili obecność BNP oraz odpowiadającego mu mRNA w obrębie zaawansowanych zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych u pacjentów poddanych

transplantacji serca, przy czym miejscem wybiórczej ekspresji genu dla BNP były komórki mięśniówki gładkiej w obrębie błony wewnętrznej i przydanki. Ponadto badania *in vitro* dowodzą, że cytokiny prozapalne (czynnik wzrostu guza α i interleukina 1β) zwiększają ekspresję genu dla BNP w kardiomiocytach, pozostając bez wpływu na ekspresję genu dla ANP [Ma et al., 2004]. Biorąc pod uwagę aktualną koncepcję miażdżycy jako procesu zapalnego przebiegającego w ścianie naczyń [Ross, 1993], nie da się wykluczyć, iż obecność miażdżycy tętnic wieńcowych może sprzyjać generacji BNP w kardiomiocytach pozostających w ich bezpośrednim sąsiedztwie.

Obecność KKr w równaniach regresji opisującej NT-proBNP odzwierciedla znaną z literatury istotną zależność stężenia peptydów natriuretycznych typu B od czynności nerek. Spadek KKr o 10 ml/min był związany ze wzrostem poziomu NT-proBNP o ok. 38%, zaś BNP o 21%, co wiązano z większą zależnością eliminacji NT-proBNP od funkcji nerek [Vickery et al., 2005]. Konsekwencją wpływu zaburzeń czynności nerek na poziom omawianych peptydów jest fakt, że w jednej z analiz bazy danych z badania BNP przy łagodnej dysfunkcji nerek zaproponowano wyższe o ok. 50% tzw. dolne wartości odcięcia poziomu BNP (104,3 pg/ml dla KKr 60–90 ml/min./1.73 m² i 70,7 pg/ml dla KKr >90 ml/min./1.73 m²), użyteczne w przypadku podejmowania decyzji wykluczających z dużym prawdopodobieństwem rozpoznanie niewydolności serca u pacjenta z ostrą dusznością [McCullough et al., 2003a]. Natomiast przy czynności nerek upośledzonej w umiarkowanym stopniu (KKr 30–60 ml/min./1.73 m²) wartości odcięcia były prawie 3-krotnie wyższe (201,2 pg/ml) w porównaniu z chorymi z prawidłową funkcją nerek [McCullough et al., 2003a]. Podobnie Luchner i wsp. (2005a) sugerowali podwyższenie wartości odcięcia dla BNP (z 75 do 125 pg/ml), a zwłaszcza NT-proBNP (ze 100 do 350 pg/ml) w diagnostyce dysfunkcji skurczowej lewej komory po przebytych zawale serca przy nawet niewielkiego stopnia (poniżej 85 ml/min) obniżeniu KKr.

5.3. Konsekwencje kliniczne zaobserwowanych zależności

W obecnej pracy u 87% pacjentów stężenia NT-proBNP były niższe od 300 pg/ml, wartości progowej, poniżej której uważa się ostrą niewydolność serca za wybitnie mało prawdopodobną (negatywna wartość predykcyjna 99%) przyczynę objawów u chorego zgłaszającego się na izbę przyjęć z dusznością [Maisel, 2006; Piechota & Piechota, 2006;

Zieliński, 2006]. Jedynie u 13 pacjentów (5 kobiet i 8 mężczyzn) stężenie tego hormonu było wyższe niż 300 pg/ml przy wartości maksymalnej 521 pg/ml, nie przekraczając zatem w żadnym przypadku kolejnego progu (900 pg/ml dla chorych w wieku 50-75 lat), gdy pozytywna i negatywna wartość predykcyjna w w/wym. sytuacji klinicznej wynoszą odpowiednio 82 i 88% [Januzzi et al., 2005; Maisel, 2006]. Jednakże należy podkreślić, że biorąc pod uwagę charakterystykę kliniczną pacjentów w niniejszej rozprawie, właściwsze jest odniesienie uzyskanych poziomów NT-proBNP do wartości uzyskanej przez Richardsa i wsp. (2006) u 1049 chorych ze stabilną chorobą wieńcową (średnia wieku 63 ± 10 lat). Autorzy ci wykazali, że optymalny próg odcięcia dzielący chorych na dwie podgrupy w oparciu o wartość EF na poziomie 40% wynosił 588 pg/ml, zaś 545 pg/ml dla chorych bez objawów niewydolności serca (negatywna wartość predykcyjna odpowiednio 85 i 90%). Jednakże powyższe wyniki uzyskano za pomocą metody radioimmunologicznej dającej wyższe wartości peptydu w porównaniu z użytą przez mnie metodą opartą na elektrochemiluminescencji. Natomiast po zastosowaniu wartości odcięcia zaproponowanej w cytowanej wcześniej pracy z zastosowaniem elektrochemiluminescencji [Costello-Boerrigter et al., 2006], a mianowicie 234 pg/ml dla mężczyzn i 246 pg/ml dla kobiet (przy wysokiej czułości i specyficzności oscylujących w granicach 90–100%) dla wykrywania osób z $EF \leq 40\%$ w populacji ogólnej w wieku 55–64 lat, zdecydowana większość pacjentów w niniejszej rozprawie (58 z 71 mężczyzn i 23 z 29 kobiet) mieściła się poniżej w/wym. wartości. Podobną wartość odcięcia (ok. 226 pg/ml) uzyskali Ng i wsp. (2005) poszukując optymalnego poziomu dla wykrywania dysfunkcji skurczowej lewej komory ($EF < 40\%$) w populacji ogólnej osób w wieku 45–80 lat przy negatywnej wartości predykcyjnej ok. 99.8%, przy czym podobny wynik przyniosła dodatkowa analiza podgrupy chorych wysokiego ryzyka (w tym z chorobą wieńcową lub nadciśnieniem tętniczym w wywiadzie). Badania Hobbsa i wsp. (2002; 2004) wskazują na nawet wyższe wartości odcięcia stężenia NT-proBNP w populacji ogólnej, u chorych z rozpoznaną niewydolnością serca oraz u pacjentów z wysokim ryzykiem jej wystąpienia (w znacznym odsetku z chorobą wieńcową): ok. 344 pg/ml z punktu widzenia $EF < 40\%$ [Hobbs et al., 2004] oraz ok. 309 pg/ml w aspekcie objawowej niewydolności serca wg kryteriów Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego [Hobbs et al., 2002] przy 100% negatywnej wartości predykcyjnej. Podane poziomy graniczne stężenia NT-proBNP zbliżone są do wyniku uzyskanego przez Groenninga i wsp. (2004) (ok. 357 pg/ml) jako optymalna wartość odcięcia pomocna w identyfikacji osób w przedziale wiekowym 50–90 lat z $EF \leq 50\%$ w populacji ogólnej przy negatywnej wartości predykcyjnej 94%. Wreszcie Luchner i wsp. (2005b), którzy również posługiwali się elektrochemiluminescencją, wyznaczyli optymalny próg odcięcia dla wykrywania dysfunkcji skurczowej lewej komory

(EF<35%) po przebytych zawale serca na poziomie 348 pg/ml z negatywną wartością predykcyjną 97%. Zatem uzyskane w niniejszej rozprawie wyniki są konsekwencją kryteriów wykluczających przyjętych w obecnej pracy, do których kwalifikowano jedynie chorych z EF przekraczającą 60%. Dodatkowe kryteria wykluczające najprawdopodobniej wzmacniały tę tendencję, wyłączając z badań chorych z takimi czynnikami podwyższającymi poziom NT-proBNP, jak przebyty zawał serca, przerost lub cechy dysfunkcji rozkurczowej lewej komory, schorzenia prowadzące do nadciśnienia płucnego i istotne hemodynamicznie wady zastawkowe serca [Maisel, 2006].

Niezależnie od powyższych rozważań, zmienność stężenia peptydu ma znaczenie kliniczne także dla jego poziomów w zakresie podobnym do obserwowanych w niniejszej rozprawie. Badania prospektywne chorych ze stabilną chorobą wieńcową dowiodły bowiem wzrostu ryzyka niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych przy przekroczeniu wartości progowych NT-proBNP na poziomie stężeń mierzonych w obecnej pracy. Wzrost ryzyka stwierdzono przy rosnących wartościach stężenia NT-proBNP począwszy od 568,4 pg/ml [Rothenbacher et al., 2006], 488 pg/ml [Schnabel et al., 2005], 100 pg/ml [Maerz et al., 2007], 74 pg/ml [Bibbins-Domingo et al., 2007], a nawet 63 pg/ml [Kragelund et al., 2005], przy czym we wszystkich powyższych publikacjach posłużono się metodą immunoelektrochemiluminescencyjną. Należy podkreślić, że przy zachowanej kurczliwości lewej komory optymalne wartości odcięcia poziomu NT-proBNP w aspekcie diagnostyki dysfunkcji rozkurczowej sytuują się w zakresie jedynie niewielkiego podwyższenia poziomu tego peptydu: 120 pg/ml z ujemną wartością predykcyjną 93% i 220 pg/ml z dodatnią wartością predykcyjną 80% [Tschoepe et al., 2005; Paulus et al., 2007]. U chorych z prawidłową funkcją skurczową lewej komory w podobnym przedziale mieściły się wartości odcięcia stężenia NT-proBNP z punktu widzenia wykrywania istotnych zwężeń w tętnicach wieńcowych: 100 pg/ml [Yesil et al., 2006] lub 214 pg/ml [Weber et al., 2004], a także w przypadku powiązania z dodatnim wynikiem wysiłkowej scyntygrafii perfuzyjnej mięśnia serca: 229 pg/ml [Staub et al., 2005]. Wydaje się więc, że przy zachowanej kurczliwości lewej komory niewielkiego stopnia zwyczajka poziomu NT-proBNP jest skutkiem często współistniejących ze sobą, obciążających rokowanie zaburzeń: choroby niedokrwiennej serca i dysfunkcji rozkurczowej lewej komory.

Powyższe dane, a także wykazany w niniejszej pracy istotny związek pomiędzy zakresem obniżenia odcinka ST a stężeniem NT-proBNP w osoczu stanowią przesłanki do twierdzenia, że częstsze oznaczanie omawianego hormonu mogłoby przyczynić się do lepszej stratyfikacji ryzyka u chorych ze stabilną dusznicą bolesną. Z drugiej strony jednak

ograniczenia finansowe czynią tą perspektywę dość odległą w rutynowej praktyce klinicznej. Abstrahując od w/wym. problemu, interesującym zagadnieniem jest zwłaszcza interakcja między NT-proBNP a innymi parametrami wpływającymi na ryzyko sercowo-naczyniowe. W badaniu *AtheroGene* Schnabel i wsp. (2005) wykazali synergistyczny niekorzystny efekt prognostyczny podwyższenia NT-proBNP (≥ 488 pg/ml) i białka C-reaktywnego ($> 6,1$ mg/l) w stabilnej dusznicy bolesnej. Z drugiej strony jednak Rothenbacher i wsp. (2006) stwierdzili, że włączenie do zestawu zmiennych prognostycznych NT-proBNP poprawiało zdolność predykcyjną modelu, podczas gdy dalsze dołączenie stężenia białka C-reaktywnego i KKr nie wywierało istotnego wpływu. W 2005 roku Clayton i wsp. zaproponowali łatwy do obliczenia wskaźnik ryzyka oparty na analizie danych 7311 chorych ze stabilną dusznicą uczestniczących w badaniu ACTION (*A Coronary disease Trial Investigating Outcome with Nifedipine gastrointestinal therapeutic system*), u których w/wym. indeks oparto o 16 rutynowo dostępnych parametrów klinicznych. Pozostaje mieć nadzieję, że w przyszłości zostanie zaproponowany podobny wskaźnik z uwzględnieniem poziomu peptydu natriuretycznego typu B. Biorąc pod uwagę omówiony wcześniej związek poziomu NT-proBNP z niedokrwieniem mięśnia serca, można zaryzykować twierdzenie, że pomiar stężenia tego peptydu mógłby być także użyteczny w stabilnej dusznicy bolesnej jako wskaźnik prognostyczny odzwierciedlający nie tylko stopień zaburzeń funkcji lewej komory, ale także – w przypadku jej prawidłowej czynności – powiązany z rozległością obszaru *myocardium* zagrożonego niedokrwieniem.

6. WNIOSKI

1. U chorych ze stabilną dusznicą bolesną bez dysfunkcji skurczowej, rozkurczowej ani przerostu mięśnia lewej komory stopień podwyższenia poziomu NT-proBNP w osoczu krwi był powiązany z sumą niedokrwiennych obniżek odcinka ST podczas ograniczonego objawami stopniowanego wysiłku fizycznego przy porównywalnym osiągniętym obciążeniu pracą podczas testu wysiłkowego.
2. Jedynie nieznamienne zależności łączyły stężenie NT-proBNP z wartością frakcji wyrzutowej oraz indeksem masy mięśnia lewej komory serca w powyższej grupie pacjentów.
3. Związek poziomu NT-proBNP z sumą niedokrwiennych obniżek odcinka ST w trakcie próby wysiłkowej uległ osłabieniu, jednak zachował istotność statystyczną także w analizie wieloczynnikowej po uwzględnieniu poprawki na pozostałe parametry powiązane w sposób

niezależny ze stężeniem peptydu w osoczu krwi: rozległość zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych i stopień upośledzenia czynności nerek.

4. U chorych ze stabilną dusznicą bolesną bez dysfunkcji skurczowej, rozkurczowej ani przerostu mięśnia lewej komory jednym z czynników odpowiedzialnych za podwyższenie poziomu NT-proBNP w osoczu krwi w warunkach spoczynkowych jest wielkość i rozległość niedokrwienia mięśnia serca w trakcie wysiłku fizycznego. Może to wynikać z powtarzalnych epizodów niedokrwienych w trakcie codziennej aktywności, prawdopodobnie poprzez wzmożenie ekspresji genu dla BNP w niedokrwionym *myocardium*.

7. STRESZCZENIE

Podwyższony poziom peptydu natriuretycznego typu B (*brain natriuretic peptide*) oraz N-końcowego fragmentu jego prohormonu (*N-terminal proBNP*, NT-proBNP) w osoczu krwi jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym nie tylko w niewydolności serca i ostrych zespołach wieńcowych, ale także u chorych ze stabilną dusznicą bolesną. Związek ten okazał się częściowo niezależny od powiązania stężenia BNP/NT-proBNP z innymi wskaźnikami podwyższonego ryzyka, jak obniżenie frakcji wyrzutowej lewej komory, rozległość miażdżycy tętnic wieńcowych w badaniu angiograficznym, upośledzenie czynności nerek oraz cechy dysfunkcji rozkurczowej lewej komory w badaniach inwazyjnych i nieinwazyjnych. Została sformułowana hipoteza, że niedokrwienie *myocardium* może nasilać uwalnianie BNP w sposób częściowo niezależny od dysfunkcji rozkurczowej lewej komory serca w stabilnej dusznicy bolesnej.

Celem niniejszego badania była odpowiedź na pytanie, czy u chorych ze stabilną dusznicą bolesną, prawidłową funkcją skurczową i rozkurczową lewej komory oraz bez

przebytego zawału serca istnieje związek między poziomem NT-proBNP w osoczu krwi a wynikiem elektrokardiograficznej próby wysiłkowej.

Badaniami objęto 100 osób (29 kobiet i 71 mężczyzn) w wieku 40–74 lat (średnia wieku 58 ± 9 lat) ze stabilną dusznicą bolesną i znamionymi niedokrwienymi obniżkami odcinka ST podczas elektrokardiograficznego testu wysiłkowego, pozostających w kontroli Poradni Przyklinicznej II Kliniki Kardiologii Collegium Medicum UJ. Zastosowano szeroki zestaw kryteriów wykluczających z badania, m. in. objawy sugerujące niewydolność serca, przebyte zawały serca lub zabiegi angioplastyki wieńcowej czy chirurgicznej rewaskularyzacji serca, cechy dysfunkcji skurczowej lub rozkurczowej lewej komory bądź jej przerost w badaniu echokardiograficznym, wady wrodzone i istotne wady zastawkowe serca. W podgrupie 60 mężczyzn, u których została wykonana koronarografia, do badań kwalifikowano jedynie pacjentów z istotnymi ($\geq 70\%$) zwężeniami w tętnicach wieńcowych. U wszystkich badanych oznaczono w warunkach spoczynkowych poziom NT-proBNP w osoczu krwi immunochemiczną techniką elektrochemiluminescencyjną przy użyciu gotowych zestawów. W trakcie ograniczonego objawami stopniowanego testu wysiłkowego wykonanego wg standardowego protokołu Bruce'a poza rutynowo oznaczanymi parametrami zmierzono sumę maksymalnych skośnych w dół lub poziomych istotnych (≥ 1 mm) obniżek odcinka ST we wszystkich odprowadzeniach.

U chorych z wyższym poziomem poziomu NT-proBNP w osoczu krwi w warunkach spoczynkowych obserwowano istotny wzrost sumy niedokrwienych obniżek odcinka ST podczas testu wysiłkowego przy porównywalnym osiągniętym obciążeniu pracą. Ponadto stwierdzono znamioną ujemną korelację stężenia NT-proBNP z klirensiem endogennej kreatyniny oraz dodatnią korelację z rozległością zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych. Jedynie nieznamienne tendencje wiązały NT-proBNP z wiekiem badanych, frakcją wyrzutową lewej komory oraz indeksem masy jej mięśnia. Przedstawione zależności utrzymywały się niezależnie od tego, czy posłużono się porównaniem w/wym. parametrów w podgrupach wyodrębnionych na podstawie przedziałów kwartylowych poziomu NT-proBNP, czy traktowano stężenie NT-proBNP jako zmienną o charakterze ciągłym. W końcowym równaniu liniowej regresji wielokrotnej z krokowym doбором zmiennych opisującym logarytmiczną pochodną poziomu NT-proBNP znalazły się: suma niedokrwienych obniżek odcinka ST podczas testu wysiłkowego, rozległość zmian angiograficznych w tętnicach wieńcowych oraz klirens endogennej kreatyniny.

Przedstawione wyniki wskazują, że:

1. U chorych ze stabilną dusznicą bolesną bez dysfunkcji skurczowej, rozkurczowej ani przerostu mięśnia lewej komory stopień podwyższenia poziomu NT-proBNP w osoczu krwi był powiązany z sumą niedokrwiennych obniżek odcinka ST podczas ograniczonego objawami stopniowanego wysiłku fizycznego przy porównywalnym osiągniętym obciążeniu pracą podczas testu wysiłkowego.
2. Jedynie nieznamienne zależności łączyły stężenie NT-proBNP z wartością frakcji wyrzutowej oraz indeksem masy mięśnia lewej komory serca.
3. Związek poziomu NT-proBNP z sumą niedokrwiennych obniżek odcinka ST w trakcie próby wysiłkowej uległ osłabieniu, jednak zachował istotność statystyczną także w analizie wieloczynnikowej po uwzględnieniu poprawki na pozostałe parametry powiązane w sposób niezależny ze stężeniem peptydu w osoczu krwi: rozległość zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych i stopień obniżenia klirensu endogennej kreatyniny.
4. U chorych ze stabilną dusznicą bolesną bez dysfunkcji skurczowej, rozkurczowej ani przerostu mięśnia lewej komory jednym z czynników odpowiedzialnych za podwyższenie poziomu NT-proBNP w osoczu krwi w warunkach spoczynkowych jest nasilenie i rozległość niedokrwienia mięśnia serca w trakcie wysiłku. Może to wynikać z powtarzających się epizodów niedokrwiennych w trakcie codziennej aktywności, prawdopodobnie poprzez utrzymujące się wzmożenie ekspresji genu dla BNP w niedokrwionym *myocardium*.

8. SUMMARY

Elevated circulating levels of B-type natriuretic peptide (BNP) or N-terminal fragment of its prohormone (NT-proBNP) are adverse outcome predictors not only in heart failure and acute coronary syndromes but also in stable angina. The prognostic effect of BNP/NT-proBNP is partially independent of the known associations of BNP/NT-proBNP levels with other cardiovascular risk markers, such as depressed left ventricular ejection fraction, angiographic extent of coronary artery disease, renal dysfunction and features of left ventricular diastolic dysfunction as assessed invasively or non-invasively. It has been hypothesized that myocardial ischemia may stimulate BNP release also irrespective of left ventricular diastolic dysfunction in stable angina.

The aim of the present study was to investigate the relationship between resting plasma NT-proBNP levels and parameters derived from an ECG exercise test in stable angina patients with a normal left ventricular systolic and diastolic function without prior myocardial infarction.

100 stable angina subjects (29 women and 71 men) aged 40–74 years (mean 58 ± 9 years) with stable angina and significant exercise-induced ischemic ST segment depression were recruited from the outpatient clinic of the 2nd Department of Cardiology, Jagiellonian University. A wide set of exclusion criteria included symptoms/signs of heart failure, a history of myocardial infarction, percutaneous coronary angioplasty, surgical coronary revascularization, echocardiographic features of left ventricular systolic or diastolic dysfunction, left ventricular hypertrophy, congenital heart disease, significant valvular heart disease. In 60 men in whom coronary angiography was performed, exclusively subjects with significant luminal diameter stenoses of $\geq 70\%$ within major epicardial segments of at least one of coronary arteries were included. In addition to routine parameters, the sum of significant (≥ 1 mm) downsloping or horizontal ST segment depressions was recorded during a symptom-limited treadmill exercise test performed according to the standard Bruce protocol. NT-proBNP levels in plasma were measured under resting conditions by means of an electrochemiluminescence immunoassay using a commercially available kit.

Increasing BNP levels at rest were associated with statistically significant rises in the sum of ischemic ST segment depressions during the exercise test at a comparable workload. Additionally, in univariate analysis BNP concentrations correlated negatively to creatinine clearance and positively to angiographic extent of coronary atherosclerosis. Additionally, insignificant correlations between the levels of NT-proBNP and age, left ventricular ejection fraction and left ventricular mass index were found. These associations were maintained irrespective of the computational method, i.e. both for comparisons of subgroups created on the basis of NT-proBNP quartiles and when analyzing NT-proBNP levels as a continuous variable. By means of multiple linear regression with forward stepwise variable selection, the sum of ischemic ST segment depressions, angiographic extent of coronary atherosclerosis and creatinine clearance entered the final regression equation describing log-transformed NT-proBNP levels as a dependent variable.

These results suggest that:

1. In stable angina patients without left ventricular dysfunction or hypertrophy the magnitude of resting NT-proBNP elevations was associated with the sum of exercise-induced ischemic ST segment depressions despite a comparable workload during the standard symptom-limited exercise test.
2. Resting NT-proBNP levels were only weakly linked to left ventricular ejection fraction and left ventricular mass index.

3. The relationship between plasma NT-proBNP and the sum of exercise-induced ischemic ST segment deviations was attenuated, yet maintained on multivariate adjustment for other factors independently related to NT-proBNP, i.e. angiographic extent of coronary artery disease and a lower creatinine clearance.
4. Resting NT-proNP levels are related to the magnitude and extent of exercise-induced ischemia in stable angina patients free of left ventricular dysfunction or hypertrophy irrespective of angiographic extent of coronary artery disease and renal dysfunction. This may be due to repeated ischemic episodes during daily activity, probably via chronically increased BNP gene expression in the ischemic myocardium.

9. PIŚMIENICTWO

1. Anand IS, Fisher LD, Chiang YT, et al.: Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Circulation* 2003; 107: 1278-1283.
2. Anavekar NS, McMurray JJ, Velazquez EJ, et al.: Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2004; 351: 1285-1295.
3. Asada J, Tsuji H, Iwasaka T, Thomas JD, Lauer MS.: Usefulness of plasma brain natriuretic peptide levels in predicting dobutamine-induced myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 2004; 93: 702-724.
4. Bayes-Genis A, Lopez L, Zapico-Muniz E, et al.: NT-proBNP reduction percentage during admission for acute decompensated heart failure predicts long-term cardiovascular mortality. *J Card Fail* 2005; 11 (5 Suppl): S3-S8.

5. Berger R, Huelsman M, Strecker K, et al.: B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2002; 105: 2392-2397.
6. Bergler-Klein J, Klaar U, Heger M, et al.: Natriuretic peptides predict symptom-free survival and postoperative outcome in severe aortic stenosis. *Circulation* 2004; 109: 2302-2308.
7. Bettencourt P, Azevedo A, Pimenta J, Frioies F, Ferreira S, Ferreira A.: N-terminal-pro-brain natriuretic peptide predicts outcome after hospital discharge in heart failure patients. *Circulation* 2004; 110: 2168-2174.
8. Bibbins-Domingo K, Ansari M, Schiller NB, Massie B, Whooley MA.: B-type natriuretic peptide and ischemia in patients with stable coronary artery disease. Data from the Heart and Soul Study. *Circulation* 2003; 108: 2987-2992.
9. Bibbins-Domingo K, Gupta R, Na B, Wu A, Schiller N, Wholey M.: N-terminal fragment of the prohormone brain-type natriuretic peptide (NT-proBNP), cardiovascular events, and mortality in patients with stable coronary heart disease. *JAMA* 2007; 297: 169-176.
10. Booz GW.: Putting the brakes on cardiac hypertrophy, Exploiting the NO–cGMP counter-regulatory system. *Hypertension* 2005; 45: 341-346.
11. Brenden CK, Hollander JE, Guss D, et al.: Gray zone BNP levels in heart failure patients in the emergency department: results from the Rapid Emergency Department Heart Failure Outpatient Trial (REDHOT) multicenter study. *Am Heart J* 2006; 151:1006-1010.
12. Briguori C, Betocchi S, Manganelli F, et al.: Determinants and clinical significance of natriuretic peptides and hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2001; 22: 1328-1336.
13. Buckley MG, Markandu ND, Miller MA, Sagnella GA, MacGregor GA.: Plasma concentrations and comparisons of brain and atrial natriuretic peptide in normal subjects and in patients with essential hypertension. *J Hum Hypertens* 1993; 7: 245-250.
14. Buckley MG, Marcus NJ, Yacoub MH.: Cardiac peptide stability, aprotinin and room temperature: importance for assessing cardiac function in clinical practice. *Clin Sci* 1999; 97: 689-695.
15. Casco VH, Veinot JP, Kuroski de Bold ML, Masters RG, Stevenson MM, de Bold AJ.: Natriuretic peptide system gene expression in human coronary arteries. *J Histochem Cytochem* 2002; 50: 799-809.

16. Chun Y-S, Hyun J-Y, Kwak Y-G, et al.: Hypoxic activation of arterial natriuretic peptide gene promoter through direct and indirect actions of hypoxia-inducible factor-1. *Biochem J* 2003; 370: 149-157.
17. Clavell AL, Stingo AJ, Wei CM, Heublein DM, Burnett Jr JC.: C-type natriuretic peptide: a selective cardiovascular peptide. *Am J Physiol* 1993; 264: R290-R295.
18. Clayton TC, Lubsen J, Pocock SJ et al.: Risk score for predicting death, myocardial infarction, and stroke in patients with stable angina, based on a large randomised trial cohort of patients. *BMJ* 2005; 331: 869-873.
19. Costello-Boerrigter LC, Boerrigter G, Redfield MM, et al.: Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide in the general community. Determinants and detection of left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 345-353.
20. D'Souza SP, Baxter GF.: B-type natriuretic peptide: a good omen in myocardial ischaemia? *Heart* 2003; 89: 707-709.
21. Daniels LB, Clopton P, Bhalla V, et al.: How obesity affects the cut-points for B-type natriuretic peptide in the diagnosis of acute heart failure. Results from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am Heart J* 2006; 151: 999-1005.
22. Dao Q, Krishnaswamy P, Kazanegra R, 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: 379-385.
23. Davidson NC, Coutie WJ, Struthers AD.: N-terminal proatrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide are stable for up to 6 hours in whole blood in vitro. *Circulation* 1995; 91: 1276-1277.
24. Davis M, Espiner E, Richards G, et al.: Plasma brain natriuretic peptide in assessment of acute dyspnea. *Lancet* 1994; 343: 440-444.
25. Davis ME, Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, Frampton CM, Troughton RW.: Introduction of metoprolol increases plasma B-type cardiac natriuretic peptides in mild, stable heart failure. *Circulation* 2006; 113: 977-985.
26. Dong SJ, de las Fuentes L, Brown AL, Waggoner AD, Ewald GA, Dávila-Román VG.: N-terminal pro B-type natriuretic peptide levels: correlation with echocardiographically determined left ventricular diastolic function in an ambulatory cohort. *J Am Soc Echocardiogr* 2006; 19: 1017-1025.

27. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H.: A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts. *Life Sci* 1981; 28: 89-94.
28. de Bold AJ, Ma KK, Zhang Y, et al.: The physiological and pathophysiological modulation of the endocrine function of the heart. *Can J Physiol Pharmacol* 2001; 79: 705-714.
29. de Lemos JA, Morrow DA, Bentley JH, et al.: The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001; 345: 1041-1021.
30. European Study Group on Diastolic Heart Failure: How to diagnose diastolic heart failure. *Eur Heart J* 1998; 19: 990-1003.
31. Fijałkowska A, Kurzyna M, Torbicki A, et al.: Serum N-terminal brain natriuretic peptide as a prognostic parameter in patients with pulmonary hypertension. *Chest* 2006; 129: 1313-1321.
32. Fletcher GF, Balady GJ, Amsterdam EA, et al.: Exercise standards for testing and training: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association *Circulation* 2001; 104: 1694-1740.
33. Foote RS, Pearlman JD, Siegel AH, Yeo K-T J.: Detection of exercise-induced ischemia by changes in B-type natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1980-1987.
34. Furuya M, Yoshida M, Hayashi Y, et al.: C-type natriuretic peptide is a growth inhibitor of rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 177: 927-931.
35. Gagelmann M, Hock D, Forssmann WG.: Urodilatin (CDD/ANP-95-126) is not biologically inactivated by a peptidase from dog kidney cortex membranes in contrast to atrial natriuretic peptide/cardiodilatin (alpha-hANP/CDD-99-126). *FEBS Lett* 1988; 233: 249-254.
36. Galderisi MS.: Diastolic dysfunction and diastolic heart failure: diagnostic, prognostic and therapeutic aspects. *Cardiovasc Ultrasound* 2005; 3: 9-23.
37. Galvani M, Ferrini D, Ottani F.: Natriuretic peptides for risk stratification of patients with acute coronary syndromes. *Eur J Heart Fail* 2004a; 6: 327-333.
38. Galvani M, Ottani F, Oltrona L, et al.: N-terminal pro-brain natriuretic peptide on admission has prognostic value across the whole spectrum of acute coronary syndromes. *Circulation* 2004b; 110:128-134.

39. Gerber IL, Steward RA, French JK, et al.: Association between plasma natriuretic peptide levels, symptoms, and left ventricular function in patients with chronic aortic regurgitation. *Am J Cardiol* 2003a; 92: 755-758.
40. Gerber IL, Steward RA, Legget ME, et al.: Increased plasma natriuretic peptide levels reflect symptom onset in aortic stenosis. *Circulation* 2003b; 107: 1884-1890.
41. Gibbons RJ, Abrams J, Chatterjee K, et al.: ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with chronic stable angina: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 1999 Practice Guidelines for the Management of Patients with Chronic Stable Angina). 2002: www.acc.org/guidelines/clinical/stable/stable.pdf.
42. Goetze JP, Christoffersen C, Perko M, et al.: Increased cardiac BNP expression associated with myocardial ischemia. *FASEB* 2003; 17: 1105-1107.
43. Goetze JP, Gore A, Moller CH, Steinbruchel DA, Rehfeld JF, Nielsen LB.: Acute myocardial hypoxia increases BNP gene expression. *FASEB J*, 2004; 18: 1928-1930.
44. Goetze JP, Friis-Hansen L, Rehfeld JF, Nilsson B, Svendsen JH.: Atrial secretion of B-type natriuretic peptide. *Eur Heart J* 2006; 27: 1648-1650.
45. Groenning BA, Raymond I, Hildebrandt PR.: Diagnostic and prognostic evaluation of left ventricular systolic heart failure by plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide concentrations in a large sample of the general population. *Heart* 2004; 90: 297-303.
46. Gustafsson F, Steensgaard-Hansen F, Badskjar J, et al.: Diagnostic and prognostic performance of N-terminal proBNP in primary care patients with suspected heart failure. *J Card Fail* 2005; 11: 15-20.
47. Hama N, Itoh H, Shirakami G, et al.: Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation* 1995; 92: 1558-1564.
48. Hasegawa K, Fujiwara H, Doyama K, et al.: Ventricular expression of brain natriuretic peptide in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1993; 88: 372-380.
49. Heeschen C, Hamm CW, Mitrovic V, Lantelme NH, White HD; Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management (PRISM) Investigators: N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels for dynamic risk stratification of patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2004; 110: 3206-3212.

50. 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: 313-317.
51. Hobbs FD, Davis RC, Roalfe AK, Hare R, Davies MK, Kenkre JE.: Reliability of N-terminal pro-brain natriuretic peptide assay in diagnosis of heart failure: Cohort study in representative and high-risk community populations. *BMI* 2002; 324: 1498-1502.
52. Hobbs FD, Davis RC, Roalfe AK, Hare R, Davies MK.: Reliability of N-terminal proBNP assay in diagnosis of left ventricular systolic dysfunction within representative and high risk populations. *Heart* 2004; 90: 866-870.
53. Hopkins WE, Hall C.: Paradoxical relationship between N-terminal proatrial natriuretic peptide and filling pressure in adults with cyanotic congenital heart disease. *Circulation* 1997; 96: 2215-2220.
54. Hopkins WE, Chen Z, Fukagawa NK, Hall C, Knot HJ, LeWinter MM.: Increased atrial and brain natriuretic peptides in adults with cyanotic congenital heart disease. Enhanced understanding of the relationship between hypoxia and natriuretic peptides secretion. *Circulation* 2004; 109: 2872-2877.
55. Inoue S, Murakami Y, Sano K, Katoh H, Shimada T.: Atrium as a source of brain natriuretic polypeptide in patients with atrial fibrillation. *J Card Fail* 2000; 6: 92-96.
56. Itoh H, Pratt RE, Dzau VJ.: Atrial natriuretic polypeptide inhibits hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1990; 86: 1690-1697.
57. Iwanaga Y, Nishi I, Furuichi S, et al.: B-type natriuretic peptide strongly reflects diastolic wall stress in patients with chronic heart failure: comparison between systolic and diastolic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 742-748.
58. James SK, Lindahl B, Siegbahn A, et al.: N-terminal pro-brain natriuretic peptide and other risk markers for separate prediction of mortality and subsequent myocardial infarction in patients with unstable coronary artery disease: A Global Utilization of Strategies To Open occluded arteries (GUSTO)-IV substudy. *Circulation* 2003; 108: 275-281.
59. Januzzi JL Jr., Camargo CA, Anwaruddin S, et al.: The N-terminal pro-BNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study. *Am J Cardiol* 2005; 95: 948-954.
60. Januzzi JL, van Kimmenade R, Lainchbury J, et al.: NT-proBNP testing for diagnosis and short-term prognosis in acute destabilized heart failure: an international pooled analysis of

- 1256 patients: the International Collaborative of NT-proBNP Study. *Eur Heart J* 2006; 27: 330-337.
61. Jernberg T, Stridsberg M, Venge P, Lindahl B.: N-terminal pro brain natriuretic peptide on admission for early risk stratification of patients with chest pain and no ST-segment elevation. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 437-445.
 62. Jernberg T, Lindahl B, Siegbahn A, et al.: N-terminal pro-brain natriuretic peptide in relation to inflammation, myocardial necrosis, and the effect of an invasive strategy in unstable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1909-1916.
 63. 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: 319-325.
 64. Johnson W, Omland T, Hall C, et al.: Neurohormonal activation rapidly decreases after intravenous therapy with diuretics and vasodilators for class IV heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1623-1629.
 65. Jourdain P, Bellorini M, Funck F, et al.: Short-term effects of sinus rhythm restoration in patients with lone atrial fibrillation: a hormonal study. *Eur J Heart Fail* 2002; 4: 263-267.
 66. Jourdain P, Jondeau G, Funck F, et al.: Plasma brain natriuretic peptide-guided therapy to improve outcome in heart failure: the STARS-BNP Multicenter Study. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 1733-1739.
 67. Kangawa K, Matsuo H.: Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP). *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 118: 131-139.
 68. Kalra PR, Clague JR, Bolger AP, et al.: Myocardial production of C-type natriuretic peptide in chronic heart failure. *Circulation* 2003; 107: 571-573.
 69. Kalra PR, Gomma A, Daly C, et al.: Reduction in plasma concentrations of N-terminal pro B type natriuretic peptide following percutaneous coronary intervention. *Heart* 2004; 90: 1334-1335.
 70. Karl J, Borgya A, Gallusser A, et al.: Development of a novel, N-terminal-proBNP (NT-proBNP) assay with a low detection limit. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1999; 230: 177-181.

71. Kikuta K, Yasue H, Yoshimura M, et al.: Increased plasma levels of B-type natriuretic peptide in patients with unstable angina. *Am Heart J* 1996; 132: 101-107.
72. Kisch B.: Electron microscopy of the atrium of the heart. I. Guinea pig. *Exp Med Surg* 1956; 14: 99-112.
73. Knudsen CW, Omland T, Clopton P, et al.: Impact of atrial fibrillation on the diagnostic performance of B-type natriuretic peptide concentration in dyspneic patients: an analysis from the breathing not properly multinational study. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 838-844.
74. Koglin J, Pehlivanli S, Schwaiblmair M, Vogeser M, Cremer P, Von Scheidt W.: Role of brain natriuretic peptide in risk stratification of patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 1934-1941.
75. Kostrubiec M, Pruszczyk P, Bochowicz A, et al.: Biomarker-based risk assessment model in acute pulmonary embolism. *Eur Heart J* 2005; 26: 2166-2172.
76. Kragelund C, Gronning B, Kober L, Hildebrandt P, Steffensen R.: N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 666-675.
77. Kragelund C, Gronning B, Omland T, et al.: Is N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) a useful screening test for angiographic findings in patients with stable coronary disease? *Am Heart J* 2006; 151: 712e1-712e7.
78. Kyle RA, Gertz MA.: Primary systemic amyloidosis: clinical and laboratory features in 474 cases. *Semin Hematol* 1995; 32: 45-59.
79. Kyriakides ZS, Markianos M, Michalis L, Antoniadis A, Nikolaou NI, Kremastinos DT.: Brain natriuretic peptide increases acutely and much more prominently than atrial natriuretic peptide during coronary angioplasty. *Clin Cardiol* 2000; 23: 285-288.
80. Lainchbury JG, Campbell E, Frampton CM, Yandle TG, Nicholls MG, Richards AM.: Brain natriuretic peptide and n-terminal brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure in patients with acute shortness of breath. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 728-735.
81. Leszek P, Szperl M, Klisiewicz A, Janas J, Biederman A, Rywik T, Piotrowski W, Kopacz M, Korewicki J.: Alteration of myocardial sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase and Na⁺-Ca²⁺ exchanger expression in human left ventricular volume overload. *Eur J Heart Fail.* 2007; 9: 579-586.

82. Logeart D, Saudubray C, Beyne P, et al.: Comparative value of Doppler echocardiography and B-type natriuretic peptide assay in the etiologic diagnosis of acute dyspnea. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 1794-1800.
83. Logeart D, Thabut G, Jourdain P, et al.: PredischARGE B-type natriuretic peptide assay for identifying patients at high risk of readmission after decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43:635-641.
84. Lubien E, De Maria A, Krishnaswamy P, et al.: Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction. *Circulation* 2002; 105: 595-601.
85. Luchner A, Hengstenberg C, Loewel H, et al.: Effect of compensated renal dysfunction on approved heart failure markers. Direct comparison of brain natriuretic peptide (BNP) and N-terminal pro-BNP. *Hypertension* 2005a; 46: 118-123.
86. Luchner A, Hengstenberg C, Loewel H, et al.: NT-proBNP in outpatients after myocardial infarction: interaction between symptoms and left ventricular function and optimized cut-points. *J Card Fail* 2005b; 11(5 Suppl): S21-S27.
87. Luo Y, Jiang C, Belanger AJ, et al.: A constitutively active hypoxia-inducible factor-1alpha/VP16 hybrid factor activates expression of the human B-type natriuretic peptide gene. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 1953-1962.
88. Ma KK, Ogawa T, de Bold AJ.: Selective upregulation of cardiac brain natriuretic peptide at the transcriptional and translational levels by pro-inflammatory cytokines and by conditioned medium derived from mixed lymphocyte reactions via p38 MAP kinase. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36: 505-513.
89. Maack T, Suzuki M, Almeida FA, et al.: Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Science* 1987; 238: 675-678.
90. Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, Hisanaga T, Kinoshita M. Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker of high left ventricular end-diastolic pressure in patients with symptomatic left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 1998; 135: 825-832.
91. Maerz W, Tiran B, Seelhorst U, et al.: N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predicts total and cardiovascular mortality in individuals with or without stable coronary artery disease: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study. *Clin Chem* 2007; 53:1075-1083.

92. Maisel AS.: The coming of age of natriuretic peptides. The emperor does have clothes! *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 61-64.
93. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, et al.: Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 161-167.
94. Maisel AS, McCord J, Nowak RM, et al.: Bedside B-Type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure with reduced or preserved ejection fraction. Results from the Breathing Not Properly Multinational Study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 2010-2017.
95. Maisel AS, Clopton P, Krishnaswamy P, et al.: Impact of age, race, and sex on the ability of B-type natriuretic peptide to aid in the emergency diagnosis of heart failure: Results from the Breathing Not Properly (BNP) Multinational study. *Am Heart J* 2004a; 147: 1078-1084.
96. Maisel AS, Hollander JE, Guss D, et al.: Primary results of the Rapid Emergency Department Heart Failure Outpatient Trial (REDHOT). A multicenter study of B-type natriuretic peptide levels, emergency department decision making, and outcomes in patients presenting with shortness of breath. *J Am Coll Cardiol* 2004b; 44: 1328-1333.
97. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. for the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC): 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2007; 28: 1462-1536.
98. Mancini GB, McGillem MJ, Bates ER, Weder AB, DeBoe SF, Grekin RJ.: Hormonal responses to cardiac tamponade: inhibition of release of atrial natriuretic factor despite elevation of atrial pressures. *Circulation* 1987; 76: 884-890.
99. Maron BJ, Tholakanahalli VN, Zenovich AG, et al.: Usefulness of B-type natriuretic peptide assay in the assessment of symptomatic state in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2004; 109: 984-989.
100. Marumoto K, Hamada M, Aburaya M, Hiwada K.: Augmented secretion of atrial and brain natriuretic peptides during dynamic exercise in patients with old myocardial infarction. *Jpn Circ J* 1995; 59: 715-724.
101. Masson S, Latini R, Anand IS, et al.: Direct comparison of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in a large population of patients with chronic and symptomatic heart failure: the Valsartan Heart Failure (Val-HeFT) data. *Clin Chem* 2006; 52: 1528-1538.

102. Mayer SA, de Lemos JA, Murphy SA, Brooks S, Roberts BJ, Grayburn PA.; Comparison of B-type natriuretic peptide levels in patients with heart failure with versus without mitral regurgitation. *Am J Cardiol* 2004; 93: 1002-106.
103. McClure SJ, Gall S, Schechter CB, Kearney M, Zaman AG.: Percutaneous coronary revascularization reduces plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 2394-2397.
104. McCord J, Nowak RM, Jacobsen G, et al.: B-type natriuretic peptide levels in patients in the emergency department with possible heart failure and previous stable angina pectoris and/or healed myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2005; 96: 1370-1373.
105. McCullough PA.: Clinical applications of B-type natriuretic peptide levels in the care of cardiovascular patients. *Minerva Cardioangiol* 2004; 52: 479-489.
106. McCullough PA, Nowak RM, McCord J, et al.: B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: Analysis from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Circulation* 2002; 106: 416-422.
107. McCullough PA, Duc P, Omland T, et al.: B-type natriuretic peptide and renal function in the diagnosis of heart failure: an analysis form the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am J Kidney Dis* 2003a; 41: 571-579.
108. McCullough PA, Hollander JE, Nowak RM, et al.: Uncovering heart failure in patients with a history of pulmonary disease: rationale for the early use of B-type natriuretic peptide in the emergency department. *Acad Emerg Med* 2003b; 10: 198-204.
109. McDonagh TA, Robb SD, Murdoch DR, et al.: Biochemical detection of left- ventricular systolic dysfunction. *Lancet* 1998; 351: 9-13.
110. McDonagh TA, Holmer S, Raymond I, Luchner A, Hildebrant P, Dargie HJ.: NT-proBNP and the diagnosis of heart failure: A pooled analysis of three European epidemiological studies. *Eur J Heart Fail* 2004; 6: 269-273.
111. McDowell G, Patterson C, Maguire S, Shaw C, Nicholls DP, Hall C.: Variability of NT-proANP and C-ANP. *Eur J Clin Invest* 2002; 32: 545-548.
112. McMurray JJV, Pfeffer MA.: Heart failure. *Lancet*, 2005; 365: 1877-1889.

113. Meyer M, Richter R, Brunkhorst R, et al.: Urodilatin is involved in sodium homeostasis and exerts sodium-state-dependent natriuretic and diuretic effects. *Am J Physiol* 1996; 271: F489-F497.
114. Minamino N, Makino Y, Tateyama H, Kangawa K, Matsuo H.: Characterization of immunoreactive human C-type natriuretic peptide in brain and heart. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 179: 535-542.
115. Morita E, Yasue H, Yoshimura M, et al.: Increased plasma levels of brain natriuretic peptide in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 1993; 88: 82-91.
116. Morrison LK, Harrison A, Krishnaswamy P, et al.: Utility of a rapid B-natriuretic peptide assay in differentiating congestive heart failure from lung disease in patients presenting with dyspnea. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 2002-209.
117. Morrow DA, de Lemos JA, Sabatine MS, et al.: Evaluation of B-type natriuretic peptide for risk assessment in unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction: B-type natriuretic peptide and prognosis in TACTICS-TIMI 18. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1264-1272.
118. Morrow DA, Gersh BJ, Braunwald E.: Chronic coronary artery disease. W: Braunwald's Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine, 7th edition (red.: Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E). Elsevier Saunders, Philadelphia, 2005a: 1281-1354.
119. Morrow DA, de Lemos JA, Blazing MA, et al.: Prognostic value of serial B-type natriuretic peptide testing during follow-up of patients with unstable coronary artery disease. *JAMA* 2005b; 294: 2866-2871.
120. Mottram PM, Leano R, Marwick TH.: Usefulness of B-type natriuretic peptide in hypertensive patients with exertional dyspnea and normal left ventricular ejection fraction and correlation with new echocardiographic indexes of systolic and diastolic function. *Am J Cardiol* 2003; 92: 1434-1438.
121. Mueller C, Scholer A, Laule-Kilian K, et al.: Use of B-type natriuretic peptide in the evaluation and management of acute dyspnea. *N Engl J Med* 2004a; 350: 647-654.
122. Mueller T, Gegenhuber A, Dieplinger B, Poelz W, Haltmayer M.: Long-term stability of endogenous B-type natriuretic peptide (BNP) and amino terminal proBNP (NT-proBNP) in frozen plasma samples. *Clin Chem Lab Med* 2004b; 42: 942-944.

123. Mueller T, Gegenhuber A, Poelz W, Haltmayer M.: Diagnostic accuracy of B type natriuretic peptide and amino terminal proBNP in the emergency diagnosis of heart failure. *Heart* 2005; 91: 606-612.
124. Mueller C, Scholer A, Laule-Kilian K, et al.: Cost-effectiveness of B-type natriuretic peptide testing in the patients with acute dyspnea. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1081-1087.
125. Mueller C, Breidthardt T, Laule-Kilian K, Christ M, Perruchoud AP.: The integration of BNP and NT-proBNP into clinical medicine. *Swiss Med Wkly* 2007; 137: 4-12.
126. Mukoyama M, Nakao K, Hosoda K, et al.: Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans. *J Clin Invest* 1991; 87: 1402-1412.
127. Murakami Y, Shimada T, Inoue S, et al.: New insights into the mechanism of the elevation of plasma brain natriuretic polypeptide levels in patients with left ventricular hypertrophy. *Can J Cardiol* 2002; 18: 1294-1300.
128. Mutlu B, Bayrak F, Kahveci G, Degertekin M, Eroglu E, Basaran Y.: Usefulness of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide to predict clinical course in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2006; 98: 1504-1506.
129. Nagaya N, Nishikimi T, Okano Y, et al.: Plasma brain natriuretic peptide levels increase in proportion to the extent of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 202-208.
130. Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, et al.: Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator on patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2000; 102: 865-870.
131. Nakamura T, Sakamoto K, Yamano T, et al.: Increased plasma brain natriuretic peptide level as a guide for silent myocardial ischemia in patients with non-obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1657-1663.
132. Ndrepepa G, Braun S, Mehilli J, et al.: Plasma levels of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with coronary artery disease and relation to clinical presentation, angiographic severity, and left ventricular ejection fraction. *Am J Cardiol* 2005; 95: 553-557.
133. Ng LL, Loke LW, Davies JE, et al.: Community screening for left ventricular systolic dysfunction using plasma and urinary natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1043-1050.

134. Nieminen MS, Boehm M, Cowie MR, et al.: Executive summary of the guidelines on the diagnosis and treatment of acute heart failure: the Task Force on Acute Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005; 26: 384-416.
135. Nishigaki K, Tomita M, Kagawa K, Noda T, Minatoguchi S, Oda H, et al.: Marked expression of plasma brain natriuretic peptide is a special feature of hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 1234-1242.
136. Nishikimi T, Yoshihara F, Morimoto A, et al.: Relationship between left ventricular geometry and natriuretic peptide levels in essential hypertension. *Hypertension* 1996; 28: 22-30.
137. Ogawa Y, Tamura N, Chusho H, Nakao K.: Brain natriuretic peptide appears to act locally as an antifibrotic factor in the heart. *Can J Physiol Pharmacol* 2001; 79: 723-729.
138. Ogawa A, Seino Y, Yamashita T, Ogata K, Takano T.: Difference in elevation of N-terminal pro-BNP and conventional cardiac markers between patients with ST elevation vs non-ST elevation acute coronary syndrome. *Circ J* 2006; 70: 1372-1378.
139. Ohta Y, Shimada T, Yoshitomi H, et al.: Drop in plasma brain natriuretic peptide levels after successful direct current cardioversion in chronic atrial fibrillation. *Can J Cardiol* 2001; 17: 415-420.
140. Omland T, Aakvaag A, Bonarjee VV, et al.: Plasma brain natriuretic peptide as an indicator of left ventricular systolic function and long-term survival after acute myocardial infarction. Comparison with plasma atrial natriuretic peptide and N-terminal proatrial natriuretic peptide. *Circulation* 1996; 93: 1963-1969.
141. Omland T, Persson A, Ng L, et al.: N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in acute coronary syndromes. *Circulation* 2002; 106: 2913-2918.
142. Omland T, Richards AM, Wergeland R, Vik-Mo H.: B-type natriuretic peptide and long-term survival in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005; 95: 24-28.
143. Palazzuoli A, Gennari L, Calabria P, et al.: Relation of plasma brain natriuretic peptide levels in non-ST-elevation coronary disease and preserved systolic function to number of narrowed coronary arteries. *Am J Cardiol* 2005; 96: 1705-1710.
144. Palladini G, Campana C, Klersy C, et al.: Serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide is a sensitive marker of myocardial dysfunction in AL amyloidosis. *Circulation* 2003; 107: 2440-2445.

145. Palumbo B, Siepi D, Lupattelli G, et al.: Usefulness of brain natriuretic peptide levels to discriminate patients with stable angina pectoris without and with electrocardiographic myocardial ischemia and patients with healed myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004; 94: 780-783.
146. Panayiotou H, Haitas B, Hollister AS.: Atrial wall tension changes and the release of atrial natriuretic factor on relief of cardiac tamponade. *Am Heart J* 1995; 129: 960-967.
147. Paulus WJ, Tschoepe C, Sanderson JE, et al.: How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007; 28: 2539-2550.
148. Piechota W, Piechota W.: N-końcowy propeptyd natriuretyczny typu B (NT-proBNP) – znaczenie w kardiologii. Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o., Warszawa, 2006.
149. Piechota WN, Wierzbowski R, Piechota WT, Bejm J, Gielerak G.: N-końcowy peptyd natriuretyczny i albumina modyfikowana niedokrwieniem (IMA) w niedokrwieniu wysiłkowym u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową. *Pol Arch Med Wew* 2006; 116: 640-647.
150. Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM.: Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocrine Rev* 2006; 27: 47-72.
151. Pouleur H.: Diastolic dysfunction and myocardial energetics. *Eur Heart J* 1990; 11(suppl. C), C30-C34.
152. Pruszczyk P, Kostrubiec M, Bochowicz A, et al.: N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with acute pulmonary embolism. *Eur Respir J* 2003; 22: 649-653.
153. Qi W, Mathisen P, Kjekshus J, et al.: Natriuretic peptides in patients with aortic stenosis. *Am Heart J* 2001; 14: 725-731.
154. Ray P, Arthaud M, Birolleau S, et al.: Comparison of brain natriuretic peptide and probrain natriuretic peptide in the diagnosis of cardiogenic pulmonary edema in patients aged 65 and older. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53: 643-648.
155. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ et al.: Plasma brain natriuretic peptide to detect preclinical ventricular systolic or diastolic dysfunction: A community-based study. *Circulation* 2004; 109: 3176-3181.

156. Richards M, Nicholls G, Espiner EA, et al.: Comparison of B-type natriuretic peptides for assessment of cardiac function and prognosis in stable ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 62-60.
157. Rogers WJ, Bourassa MG, Andrews TC, et al.: Asymptomatic Cardiac Ischemia Pilot Study: outcome at 1 year for patients with asymptomatic cardiac ischemia randomized to medical therapy or revascularization. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 594-605.
158. Roques BP, Noble F, Dauge V, Fournie-Zaluski MC, Beaumont A.: Neutral endopeptidase 24.11: structure, inhibition, and experimental and clinical pharmacology. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 87-146.
159. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809.
160. Rothenbacher D, Koenig W, Brenner H.: Comparison of N-terminal pro-B-natriuretic peptide, C-reactive protein, and creatinine clearance for prognosis in patients with known coronary heart disease. *Arch Intern Med* 2006; 166: 2455-2460.
161. Rueck A, Gustafsson T, Norrbom J, et al.: ANP and BNP but not VEGF are regionally overexpressed in ischemic human myocardium. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322: 287-91.
162. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, et al.: Multimarker approach to risk stratification in non-ST elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C-reactive protein and B-type natriuretic peptide. *Circulation* 2002; 105: 1760-1763.
163. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, et al.: Acute changes in circulating natriuretic peptide levels in relation to myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1988-1995.
164. Sadanandan S, Cannon CP, Chekuri K, et al.: Association of elevated B-type natriuretic peptide levels with angiographic findings among patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 564-568.
165. Sandoval J, Bauerle O, Palomar A, et al.: Survival in primary pulmonary hypertension. Validation of prognostic equation. *Circulation* 1994; 89:1733-1744.
166. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, et al.: Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: A statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2003; 108: 2154-2169.

167. Sawada Y, Suda M, Yokoyama H, et al.: Stretch-induced hypertrophic growth of cardiocytes and processing of brain-type natriuretic peptide are controlled by proprotein-processing endoprotease furin. *J Biol Chem* 1997; 272: 20545-20554.
168. Schnabel R, Rupprecht H, Lackner K, et al.: Analysis of N-terminal-pro-brain natriuretic peptide and C-reactive protein for risk stratification in stable and unstable coronary artery disease: results from the AtheroGene study. *Eur Heart J* 2005; 26: 241-246.
169. Schou M, Gustaffson F, Nielsen PH, Madsen LH, Kjaer A, Hildebrandt PR.: Unexplained week-to-week variation in BNP and NT-proBNP is low in chronic heart failure patients during steady state. *Eur J Heart Fail* 2007; 9: 68-74.
170. Schultz H, Langvik TA, Lund Sagen E, Smith J, Ahmadi N, Hall C.: Radioimmunoassay for N-terminal pro-brain natriuretic peptide in human plasma. *Scand J Clin Lab Invest* 2001; 61: 33-42.
171. Schulz-Knappe P, Forssmann K, Herbst F, Hock D, Pipcorn R, Forssmann WG.: Isolation and structural analysis of "urodilatin", a new peptide of the cardiodilatin-(ANP)-family, extracted from human urine. *Klin Wochenschr* 1988; 66: 752-759.
172. Shang YP, Lai L, Chen J, Zhang F, Wang X.: Effects of percutaneous balloon mitral valvuloplasty on plasma B-type natriuretic peptide in rheumatic mitral stenosis with and without atrial fibrillation. *J Heart Valve Dis* 2005; 14: 453-459.
173. Silver MA, Maisel A, Yancy CW, et al.: BNP consensus panel 2004: a clinical approach for diagnostic, prognostic, screening, treatment monitoring, and therapeutic roles of natriuretic peptides in cardiovascular diseases. *Congest Heart Fail* 2004; 10 (5 Suppl 3): 1-30.
174. Staub D, Jonas N, Zellweger MJ, et al.: Use of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide to detect myocardial ischemia. *Am J Med* 2005; 118: 1287.e9-1287.e16.
175. Stein BC, Levin RI.: Natriuretic peptides: Physiology, therapeutic potential, and risk stratification in ischemic heart disease. *Am Heart J* 1998; 135: 914-923.
176. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS.: Assessing kidney function –measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med* 2006; 354: 2473-2483.
177. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H.: A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988; 332: 78-81.

178. Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H.: C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168: 863-870.
179. Sutton TM, Steward RA, Gerber IL, et al.: Plasma natriuretic peptide levels increase with symptoms and severity of mitral regurgitation. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 2280-2287.
180. Suzuki S, Yoshimura M, Nakayama M, et al.: Plasma level of B-type natriuretic peptide as a prognostic marker after acute myocardial infarction: A long-term follow-up analysis. *Circulation* 2004; 110: 1387-1391.
181. Swedberg K, Cleland J, Dargie H, et al.: Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005). *Eur Heart J* 2005; 26: 1115-1140.
182. Talwar S, Siebenhofer A, Williams B, Ng L.: Influence of hypertension, left ventricular hypertrophy, and left ventricular systolic dysfunction on plasma N terminal proBNP. *Heart* 2000a; 83: 278-282.
183. Talwar S, Squire IB, Downie PF, et al.: Profile of plasma N-terminal proBNP following acute myocardial infarction: correlation with left ventricular systolic dysfunction. *Eur Heart J* 2000b; 21: 1514-1521.
184. Tamura N, Ogawa Y, Chusto H, et al.: Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 4239-4244.
185. Tateishi J, Masutani M, Ohyanagi M, Iwasaki T.: Transient increase in plasma brain (B-type) natriuretic peptide after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Clin Cardiol*, 2000; 23: 776-780.
186. Thaman R, Esteban MT, Barnes S, et al.: Usefulness of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels to predict exercise capacity in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2006; 98: 515-519.
187. Thibault G, Amiri F, Garcia R.: Regulation of natriuretic peptide secretion by the heart. *Annu Rev Physiol.* 1999; 61: 193-217
188. Troughton RW, Frampton CM, Yandle TG, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM.: Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet* 2000; 355: 1126-1130.

189. Troughton RW, Richards AM, Yandle TG, Frampton CM, Nicholls MG.: The effects of drugs on circulating levels of cardiac natriuretic peptides. *Ann Med* 2007; 39: 242-260.
190. Tschoepe C, Kasner M, Wetsermann D, et al.: The role of NT-proBNP in the diagnostics of isolated diastolic dysfunction: correlation with echocardiographic and invasive measurements. *Eur Heart J* 2005; 26: 2277-2284.
191. Tsuruda T, Boerrigter G, Huntley BK, et al.: Brain natriuretic peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases. *Circ Res* 2002; 91: 1127-1134.
192. Uusimaa P, Tokola H, Ylitalo A, et al.: Plasma B-type natriuretic peptide reflects left ventricular hypertrophy and diastolic function in hypertension. *Int J Cardiol* 2004; 97: 251-256.
193. Vasan RS, Larson MG, Benjamin EJ, Evans JC, Reiss CK, Levy D.: Congestive heart failure in subjects with normal versus reduced left ventricular ejection fraction: Prevalence and mortality in a population-based cohort. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33:1948-1955.
194. Vasan RS, Benjamin EJ, Larson MG, et al.: Plasma natriuretic peptides for community screening for left ventricular hypertrophy and systolic dysfunction: the Framingham heart study. *JAMA* 2002; 288: 1252-1259.
195. Verdiani V, Nozzoli C, Bacci F, et al.: Pre-discharge B-type natriuretic peptide predicts early recurrence of decompensated heart failure in patients admitted to a general medical unit. *Eur J Heart Fail* 2005; 7: 566-571.
196. Vickery S, Price CP, Abbas NA, et al.: B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with CKD: relationship to renal function and left ventricular hypertrophy. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 610-620.
197. Weber M, Dill T, Arnold R, et al.: N-terminal B-type natriuretic peptide predicts extent of coronary artery disease and ischemia in patients with stable angina pectoris. *Am Heart J* 2004; 148: 612-620.
198. Wijnbenga JA, Balk AH, Boomsma F, Man in 't Veld AJ, Hall C.: Cardiac peptides differ in their response to exercise. Implications for patients with heart failure in clinical practice. *Eur Heart J* 1999; 20: 1424-1428.
199. Wolde M, Tulevski II, Mulder JW, et al.: Brain natriuretic peptide as a predictor of adverse outcome in patients with pulmonary embolism. *Circulation* 2003; 107: 2082-2084.

200. Wu F, Yan W, Pan J, Morser J, Wu Q.: Processing of pro-atrial natriuretic peptide by corin in cardiac myocytes. *J Biol Chem* 2002; 277: 16900-16905.
201. Yandle TG.: Biochemistry of natriuretic peptides. *J Intern Med* 1994; 235: 561-576.
202. Yesil M, Postaci N, Arikan E, Ceylan O, Bayata S, Koseoglu M.: Can we predict the severity of coronary artery disease in patients with stable angina using NT-ProBNP? *Anadolu Kardiyol Dreg* 2006; 6: 235-238.
203. Yu CM, Fung JW, Zhang Q, et al.: Improvement of serum NT-proBNP predicts improvement in cardiac function and favorable prognosis after cardiac resynchronization therapy for heart failure. *J Card Fail* 2005; 11(5 Suppl): 42-46.
204. Zaid GHZ, Tanchilevitch A, Rivlin E, et al.: Diagnostic accuracy of serum B-type natriuretic peptide for myocardial ischemia detection during exercise testing with Spect perfusion imaging. *Int J Cardiol* 2007; 117: 157-164.
205. Zaphiriou A, Robb S, Murray-Thomas T, et al.: The diagnostic accuracy of plasma BNP and NTproBNP in primary care patients with suspected heart failure: results of the UK natriuretic peptide study. *Eur J Heart Fail* 2005; 7: 537-541.
206. Zebrack JS, Anderson JL, Beddhu S et al. for the Intermountain Heart Collaborative Study Group: Do associations with C-reactive protein and extent of coronary artery disease account for the increased cardiovascular risk of renal insufficiency? *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 57-63.
207. Zieliński J.: Mózgowy peptyd natriuretyczny – ważny marker kliniczny. *Kardiologia Pol* 2006; 64: 257-258.