

Semnificații diagnostice și prognostice ale peptidelor natriuretice în insuficiența cardiacă

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Doctorand **Maria Ilea**

Conducător de doctorat **Prof. Dr. Dumitru Zdrenghea**

Cluj-Napoca, 2012

CUPRINS

Publicații	3
Cuvinte cheie	3
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	3
Introducere	3
Definiția insuficienței cardiace	4
Terminologie	4
CONTRIBUȚII PERSONALE	5
Cinetica peptidelor cardiace în diferite tipuri de efort la pacienți cu insuficiență cardiacă sistolică și diastolică	5
Obiectivele cercetării	5
Metodologie generală	5
Studiul 1 - Peptide cardiace în repaus și în timpul efortului standardizat la pacienții cu insuficiență cardiacă din cardiomiopatia dilatativă	6
Scop	6
Material și metodă	6
Rezultate și discuții	7
Concluzii	7
Studiul 2 - Modificarea peptidelor cardiace în timpul testului de efort cu membre inferioare și brațele la pacienții cu insuficiență cardiacă sistolică	7
Scop	7
Material și metodă	7
Rezultate și discuții	7
Concluzii	8
Studiul 3 - Efectul efortului maximal versus submaximal asupra eliberării peptidelor cardiace la pacienții cu insuficiență cardiacă sistolică	8
Scop	8
Material și metodă	8
Rezultate și discuții	8
Concluzii	9
Studiul 4 - Dinamica peptidelor cardiace cu efortul izoton și izometric la pacienții cu disfuncție diastolică și insuficiență cardiacă diastolică	9
Introducere	9
Material și metodă	9
Rezultate și discuții	9
Concluzii	11
Studiul 5 - Peptidele cardiace în timpul testului de efort la pacienții cu IC ischemică și non-ischemică	11
Introducere	11
Material și metodă	11
Rezultate și discuții	11
Concluzii	12
Concluzii generale	12

Lista de publicații

Articole publicate *in extenso* ca rezultat al cercetării doctorale

1. Ilea M, Zdrenghea D, Bodisz G, Giurgea N, Gheorghiu L, Predescu D, Beudean M, Ossian V, Gligor E, Vlad C, Pop D, Bogdan E, Roșu R. Peptidele cardiace în efort la bolnavii cu insuficiență cardiacă. Clujul Medical 2009;82(1):51-54. *CNCSIS.B+*.
2. Ilea M, Zdrenghea D, Bodisz G, Malai A, Gheorghiu L, D. Predescu, Beudean M, Ossian V, Gligor E, Vlad C, Pop D, Bogdan E, Roșu R. Cardiac peptides during exercise test in ischemic and non-ischemic heart failure patients. Romanian Journal of Internal Medicine 2008;46(1):63-68.
3. Zdrenghea D, Ilea M, Pop D, Petrovai D, Zdrenghea M. Cardiac peptides during exercise in patients with systolic and diastolic heart failure. Acta Endocrinologica. 2009, 5, 19-25, ISI.

Cuvinte cheie:

insuficienta cardiaca sistolica si diastolica, peptidul natriuretic atrial, peptidul natriuretic de tip B, testul de efort dinamic, testul de efort izometric, TM 6 minute, TM 400m, ecocardiografia conventionala si ecocardiografia Doppler tisulara

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

INTRODUCERE

Insuficiența cardiacă (IC) constituie o problemă majoră de sănătate publică în toate societățile industriale și post-industriale, atât prin prevalența ridicată și mortalitatea crescută, cât și prin costurile socio-economice foarte ridicate.

Insuficiența cardiacă este un sindrom clinic major și o problemă de sănătate publică prin care se finalizează cea mai mare parte a bolilor cardiovasculare, în ciuda tratamentelor aplicate. Mortalitatea generală la 5 ani este de aproximativ 60%, iar cea anuală este condiționată de severitatea sindromului. Astfel, mortalitatea anuală este de 2-5% la cei din casele NYHA I-II, de 15% la cei din clasa NYHA III și peste 25% la cei din clasa NYHA IV.

Dat fiind că IC este un sindrom clinic complex, este greu de diagnosticat numai pe baza simptomelor care reflectă problemele cardiace, mai ales în stadiile precoce ale bolii.

Deși peptidul natriuretic atrial (ANP) a fost descoperit în urmă cu peste 50 de ani, utilizarea peptidelor cardiace (ANP și BNP) ca markeri biochimici diagnostici și prognostici în IC a fost studiată numai în ultimii 20-30 de ani, când s-a trecut mai serios de la stadiul de cercetare științifică la testare efectivă în practica clinică.

Ambele peptide au concentrații plasmatiche crescute la pacienții cu insuficiență cardiacă cronică. Se cunoaște că la subiecții sănătoși cu IC nivelul sanguin al ANP crește în timpul efortului, pe când răspunsul BNP la efort este mai puțin clar. În studii anterioare s-a arătat că porțiunile N-terminale ale ANP și BNP cresc mai puțin ca răspuns la efort decât porțiunile lor C-terminale, deși cele 2 porțiuni N- și C-terminale sunt secretate de manieră echimoleculară. Timpul de înjumătățire ($T_{1/2}$) diferit pare a le diferenția modificările de răspuns relativ și absolut la efort.

În lucrarea de față ne-am propus să studiem diferența de răspuns a peptidelor cardiace NT-proANP și NT-proBNP la diferite tipuri de efort, unele folosite curent în evaluarea clinică a pacienților cardiovasculari (cicloergometru cu membrele inferioare și superioare, testul de mers de 6 minute, timpul efectuat pe o distanță fixă de mers de 400 m și testul de efort izometric cu membrul superior dominant folosind dinamometru), la pacienți cu IC selectați după criteriile clinice și ecocardiografice, în vederea depistării cât mai acurate și cât mai precoce a acesteia.

Definiția insuficienței cardiace

Conform Grupului de lucru al Societății Europene de Cardiologie

IC este un sindrom clinic care trebuie să îndeplinească următoarele criterii:

- 1) Simptome clinice de insuficiență cardiacă: dispnee în repaus sau la efort, fatigabilitate, oboseală și edeme ale gambelor;
- 2) Semne tipice de IC: tahicardie, tahipnee, raluri pulmonare, presiune jugulară venoasă crescută, edeme periferice, hepatomegalie;
- 3) Dovezi obiective de anomalii structurale sau funcționale ale inimii în repaus: cardiomegalie, zgomotul 3 cardiac, sufluri cardiace, modificări ecocardiografice și creșterea concentrației sanguine a peptidelor natriuretice.

Terminologie

Distincția dintre *insuficiența cardiacă sistolică* (ICS) și *insuficiența cardiacă diastolică* (ICD) este importantă deoarece ICD pare să se asocieze cu o mai bună supraviețuire pe termen lung.

Disfuncția diastolică (DD) este o condiție progresivă ce reprezintă incapacitatea VS de a se umple și menține volumul bătaie fără a crește compensator presiunea de umplere ventriculară. DD se asociază cu o creștere disproporționată a presiunii end-diastolice VS care se repercutează într-o creștere corespunzătoare a presiunii în AS și venele pulmonare. Creșterea presiunii end-diastolice a VS și reducerea debitului cardiac anterograd declanșează activarea neurohormonală.

Dispneea este semnul cardinal al insuficienței ventriculare stângi și se poate manifesta cu creșterea progresivă a severității de la dispnee la efort, ortopnee, dispnee paroxistică nocturnă, dispnee în repaus până la edem pulmonar acut.

“*Disfuncția cardiacă*” cuprinde o sferă mai largă decât cea a IC, incluzând și disfuncția ventriculară asimptomatică, care poate fi sistolică, diastolică sau sistolico-diastolică.

Disfuncția ventriculară sistolică asimptomatică implică prezența cardiomegaliei, a fracției de ejeție VS scăzute (FEVS), și apare frecvent la bolnavii cu afectarea VS.

Disfuncția ventriculară diastolică asimptomatică se manifestă prin hipertrofie ventriculară stângă (HVS), VS nedilatată și fracție de ejeție normală sau aproape normală.

Nu există un consens dacă IC se prezintă și evoluează ca un singur sindrom de IC cu FEVS păstrată ce precede IC cu FE redusă, sau există două sindroame, unul cu remodelare excentrică a VS și disfuncție sistolico-diastolică combinată și respectiv altul cu remodelare concentrică a VS, manifestându-se în principal ca o disfuncție diastolică a VS.

Dacă IC se prezintă și evoluează ca un singur sindrom cu FE păstrată precedând IC cu FE redusă, cu declinul continuu al vitezei de scurtare miocardică (S_m) în ax lung al VS (măsurat cu Doppler tisular) și progresia spre remodelare VS excentrică ca în boala hipertensivă și în stadiile finale ale cardiomiopatiei hipertrofice (CMH).

Pacienții cu IC au anomalii atât în funcția sistolică, cât și în cea diastolică. Cu toate acestea, coexistența acestor anomalii funcționale nu înseamnă neapărat că ICS și ICD sunt parte a unui continuum. Există diferențe semnificative între ICS și ICD care justifică separarea lor în grupuri diferite. Ca atare, pacienții cu IC și FEVS păstrată pot să aibă anomalii relativ mici, dar detectabile, ale funcției sistolice. Din acest motiv termenul de IC cu FE păstrată nu ar trebui folosit. Nu există date care să susțină ideea că anomaliile contractilității sunt responsabile pentru simptomele și semnele de IC sau pentru remodelarea fiziopatologică observată la pacienții cu ICD. Pacienții cu ICD au remodelare concentrică VS caracterizată prin creșterea masei VS, volum VS normal, creșterea grosimii pereților, scăderea raportului volum/masă, creșterea dimensiunilor camerale și rigidității miocardice. Așadar, prezența indicilor anormali de contractilitate la pacienții cu ICD nu infirmă ideea că anomalia predominantă este DD. Astfel, IC la pacienții cu ICD este produsă predominant de anomalii în funcția diastolică.

În concluzie, funcția ventriculară stângă sistolică și diastolică sunt procese cuplate și inseparabile. Conceptul că există insuficiența cardiacă diastolică izolată s-ar putea datora faptului că FEVS, deși considerată o metodă robustă de diagnostic, nu este suficient de sensibilă pentru a detecta modificări discrete ale funcției miocardice sistolice.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Scopurile cercetării

În lucrarea de față ne-am propus să studiem modificările serice ale peptidelor cardiace la pacienți cu suspiciune clinică și ecocardiografică de insuficiență cardiacă, măsurate în condiții bazale și după diferite tipuri de efort.

La baza acestui studiu s-a aflat observatia ca aproape jumatate din pacientii cu insuficienta cardiaca fie ea sistolica sau diastolica sunt asimptomatici si ca atare raman subdiagnosticati desi in prezent exista mijloace tehnice ecocardiografice, markeri biochimici si teste de efort care sa ajute la stabilirea mai precoce a diagnosticului si a tratamentului adecvat.

Este să cunoaștem și să aplicăm markeri biologici ai IC descoperiți recent și anume peptidul natriuretic atrial-ANP și peptidul cardiac de tip B-BNP, pentru diagnosticul precoce al insuficienței cardiace sistolice și diastolice precum și la pacienți cu insuficiență cardiacă ischemică versus nonischemică, pe eșantioane de bolnavi selectați din Clinica de Cardiologie a Spitalului Clinic de Recuperare din Cluj-Napoca, care s-au adresat clinicii în perioada 2005-2006.

Metodologie generală

Pentru studiu au fost selectați de manieră prospectivă 264 de pacienți, care au fost împărțiți în 5 loturi în funcție de tipul de IC, sistolică sau diastolică, și în funcție de efortul efectuat.

Lotul I a cuprins 58 de pacienți cu cardiomiopatie dilatativă și insuficiență cardiacă sistolică supuși testului de efort la cicloergometru cu membrele inferioare.

Lotul II a avut 29 de pacienți cu IC în context de CMD care au efectuat două teste consecutive de efort la cicloergometru, unul cu membrele inferioare și unul cu brațele.

Lotul III a avut în obiectiv 20 de pacienți cu IC sistolică pe fond de CMD, supuși la trei teste de efort din care unul maximal la cicloergometru cu membrele inferioare comparativ cu două teste submaximale-testul de mers 6 minute și testul de mers 400 metri.

Lotul IV s-a constituit din 87 de bolnavi cu manifestări clinice și ecocardiografie de disfuncție diastolică și insuficiența cardiacă diastolică. Aceștia la rândul lor s-au împărțit în două subgrupuri după gravitatea disfuncției diastolice: un subgrup de 44 pacienți cu DD au efectuat test de efort izoton la cicloergometru și alt subgrup de 43 de pacienți cu disfuncție diastolică au efectuat atât efort izoton la cicloergometru cu membrele inferioare cât și izometric de tip handgrip cu dinamometru, în zile consecutive.

Lotul V de pacienți s-au studiat 50 de bolnavi cu IC ischemică și nonischemică s-au determinat peptidele cardiace înainte și după efort standardizat la cicloergometru, comparativ cu un lot de control de 20 pacienți.

La toți pacienții indiferent de esantionaj s-au făcut 2 determinări ale ANP și BNP sau ale segmentului NT-proANP și NT-proBNP (în funcție de disponibilitate), în condiții bazale și imediat după fiecare efort.

Măsurătorile ecocardiografice s-au efectuat pe un aparat Accuson XP 128 cu sondă de 3.5 Hz în repaus la toți pacienții pentru a-i putea încadra în grupul cu disfuncție sistolică sau diastolică.

Testul de efort izotonic s-a efectuat cu o bicicleta Kettler de proveniență Simens, iar efortul izometric s-a efectuat cu dinamometru de mână folosit în sălile de sport.

Sinopticul loturilor studiate

	P	ANP/BNP determinat	IC	Efort
LOT I	58	NT-proANP, NT-proBNP (Biomedica-Roche)	sistolică	Cicloerg. mb. inf.
LOT II	29	NT-proANP, NT-proBNP (Biomedica-Roche)	sistolică	Cicloerg. mb. sup. vs inf
LOT III	20	NT-proANP, NT-proBNP (Biomedica-Roche)	sistolică	Cicloerg. mb. inf. vs TM6M și TM 400m
LOT IV	87	Grup 1: 43 p-NT-proBNP Grup 2: 44p-NT-proANP+NT-pro BNP (Roche Diagnostics)	diastolică	43 p cicloeg. cu mb. inf 44 p cicloerg. mb. inf vs handgrip
LOT V	50+20	NT-proANP, NT-proBNP (Biomedica-Roche)	sistolică	Cicloerg. mb. inf.

P=pacient, IC=insuficiența cardiacă

S-a studiat dinamică ANP și BNP respectiv al segmentului NT cu toate tipurile de efort comparativ cu valorile bazale.

S-au măsurat parametrii ecocardiografici: fracția de eiecție a VS, MAPSE, parametrii convenționali și Doppler tisulari ai funcției diastolice, dimensiunile VS, AS, volumul AS, fluxul venos în vena pulmonară și viteza de propagare a fluxului mitral în modul M color.

S-au analizat parametrii efortului și anume durata (minute) și intensitatea efortului (W, ITT), TA sistolică și diastolică, frecvența cardiacă înainte de efort și după efort, distanța parcursă în 6 minute, durata parcurgerii celor 400 m în minute și indicele de forță (kg/mp) după efortul izometric.

Obiectivele primare ale cercetării noastre au fost de a demonstra utilitatea folosirii ANP și BNP în conjuncție cu diferite teste de efort pentru diagnosticul precoce și aprecierea prognosticului la pacienții cu IC sistolică și diastolică.

Studiul 1 - Peptidele cardiace în repaus și în timpul efortului standardizat la cicloergometru la pacienții cu insuficiență cardiacă sistolică din cardiomiopatia dilatativă

Scop

Ne-am propus să studiem comparativ comportamentul peptidelor cardiace (NT-proANP, NT-proBNP) prin intermediul concentrațiilor plasmatice ale acestora, în condiții de repaus și după efortul standardizat la cicloergometru, la pacienții cu insuficiență cardiacă sistolică din cardiomiopatia dilatativă (CMD).

Material și metodă

Pentru aceasta am urmărit 58 pacienți internați în Clinica de Cardiologie a Spitalului de Recuperare cu cardiomiopatie dilatativă și IC cronică, de etiologie ischemică și non-ischemică, cu $FE \leq 40\%$, cu TA sistolică < 160 mmHg, fără disfuncție diastolică, (raport E/A > 1 , timpul de decelerare al undei E al fluxului transmitral mare de 150 ms, dar mai mic de 240 ms ($> 150 < 240$ ms), clinic fără semne de decompensare cardiacă, capabili să efectueze test de efort pe bicicletă cu membrele inferioare.

Rezultate și discuții

La efort ambele peptide au crescut semnificativ, NT-proANP de la valoarea medie de 2448 fmol/ml la 3706 fmol/ml ($p=0.01$, $r=0.83$) respectiv cu 51%, iar NT-proBNP a crescut de la valoarea medie de 749 fmol/ml la 1264 fmol/ml ($p=0.01$, $r=0.40$) iar în termeni procentuali cu 69%.

Când s-au comparat concentrațiile plasmatice ale NT-proANP cu NT-proBNP la efortul de vârf s-a constatat de asemenea o corelație semnificativă dar moderată cu efortul între cele 2 tipuri de peptide ($p=0.01$, $r=0.40$).

Când s-au făcut corelații cu clasele NYHA, valorile ANP după efort au corelat semnificativ numai cu clasele NYHA III + IV ($p < 0.05$, $r=0.81$), nu și cu clasa NYHA II ($p=0,87$).

La analiza celor 2 peptide, NT-proANP și NT-proBNP, la pacienții cu Fia s-au constatat corelații semnificative între NT-proANP la efortul de vârf ($r=0.94$) și Fia ($p < 0.01$, $r=0.88$), și NT-proBNP la efortul de vârf ($p < 0.01$). Nu s-au găsit corelații semnificative între Fia și NT-proBNP măsurat în repaus dar în schimb s-au găsit corelații semnificative între Fia și NT-proANP măsurat în repaus.

Concluzii

- 1). NT-proANP a înregistrat valori plasmatice normale în condiții bazale.
- 2). În repaus nivelurile plasmatice ale NT-proBNP au fost crescute, la pacienții cu IC de tip sistolic din cardiomiopatia dilatativă.
- 3). Nivelurile plasmatice ale NT-proANP au corelat mai bine cu efortul, comparativ cu NT-proBNP.
- 4). Peptidele cardiace pot constitui o alternativă diagnostică rapidă acolo unde ecocardiografia nu este disponibilă sau este neconcludentă.
- 5). La pacienții cu ICS și Fia ambele peptide s-au modificat cu efortul, dar în condiții bazale a înregistrat valori crescute numai NT-proANP.
- 6). Ambele peptide pot fi folosite în evaluarea IC, dar NT-proANP corelează mai bine cu efortul, iar valoarea bazală a NT-proBNP cu gravitatea bolii.

Studiul 2 – Modificarea peptidelor cardiace în timpul testului de efort cu membrele inferioare și brațele la pacienții cu insuficiență cardiacă sistolică

Scop

Studiul comparativ al dinamicii peptidelor cardiace (NT-proANP și NT-proBNP) în timpul efortului efectuat cu membrele inferioare și brațele la pacienții cu CMD de cauză ischemică și non-ischemică și IC.

Material și metodă

Am urmărit 29 de pacienți cu vârsta medie de 56 de ani (37-76), 9 (31%) femei, 20 (69%) bărbați, din care 22 pacienți (76%) cu boală ischemică coronariană și 7 pacienți (24%) cu boală cardiacă non-ischemică, 12 pacienți cu Fia (41%), în stadiul dilatativ, în clasele funcționale NYHA II-IV. Toți pacienții au efectuat test de efort maximal limitat de simptome la cicloergometru cu brațele și membrele inferioare în 2 zile consecutive.

Rezultate și discuții

Concentrația plasmatică a NT-proANP a corelat semnificativ între cele 2 teste consecutive cu membrele inferioare și brațele ($p < 0.01$, $r = 0.88$). În ce privește concentrația NT-proBNP și aici corelația s-a menținut semnificativă în timpul efortului ($p < 0.01$, $r = 0.78$). Între cele 2 modalități de efort (membre inferioare vs brațe) al muncii inimii care corelează slab cu MVO_2 , și tinde să scadă dacă inima este dilatată.

Analiza corelației dintre peptidelor cardiace în repaus și parametrii performanței VS, au arătat corelații pozitive cu AS, DDVS și FEVS, dovedind că peptidele cardiace pot evalua nu numai severitatea insuficienței cardiace dar și deprecierea performanței cardiace.

În fazele precoce ale IC valorile de repaus ale peptidelor cardiace pot fi normale. În această fază ambele teste pot fi utilizate cu valoare aproape egală pentru a demasca performanța cardiacă scăzută și de a asigura un diagnostic acurat al dezvoltării IC.

Concluzii

1). Peptidele cardiace NT-proANP și NT-proBNP, cresc similar în efortul efectuat cu membrele inferioare și brațele, sugerând o încărcare hemodinamică similară chiar dacă nivelul maximal al efortului este cu aproape o treime mai mic în timpul efortului cu brațele.

2). În practica clinică putem folosi ambele teste cu încredere la pacienții cu IC sistolică, atât pentru evaluare cât și pentru antrenament întrucât există o corelație înaltă între TE efectuat cu membrele inferioare și TE efectuat cu brațele.

3). Evaluarea peptidelor cardiace în repaus și la efort este folositoare în diagnosticul și evaluarea pacienților cu IC

Studiul 3 – Studiul efectul efortul maximal și submaximal asupra eliberării peptidelor cardiace la pacienții cu insuficiență cardiacă sistolică

Scop

Să studiem efectul diferitelor tipuri de efort submaximal asupra eliberării peptidelor cardiace la pacienți cu ICS și CMD.

Material și metodă

Am studiat 20 de pacienți cu CMD și IC de tip sistolic, vârsta medie de 55 ani (37-70), 16 bărbați, 4 femei, 14 pacienți cu boală cardiacă ischemică, și 6 pacienți cu boală cardiacă nonischemică. Toți pacienții au executat 3 teste de efort diferite în 3 zile consecutive, la aceleași ore în cursul dimineții, și anume testul de efort maximal la cicloergometru, testul de mers 6minute (TM6M) și testul de mers 400m (TM 400m).

Rezultate și discuții

Valorile NT-proANP din efortul maximal la cicloergometru comparativ cu cele două eforturi submaximale, nu au atins valori statistice semnificative după cu urmează:

-TE bicicletă vs TM6M; $p = 0.1$, $r = 0.37$.

-TE bicicletă vs TM 400 m; $p = 0.22$, $r = 0.28$.

Valorile sanguine ale NT-proBNP realizat însă valori înalt semnificative statistic:

-TE bicicleta vs TM6M $p < 0.01$, $r = 0.71$

-TE bicicleta vs TM400 m $p < 0.01$, $r = 0.81$.

Dacă am comparat cele două teste submaximale între ele concentrația plasmatică a NT-proANP devine semnificativă statistic ($p=0.02$, $r=0.5$), iar cea a NT-proBNP are semnificație statistică crescută ($p<0.01$, $r=0.71$)

Peptidele cardiace cresc atât cu efortul maximal cât și cu cele 2 tipuri de efort submaximale, TM6M respectiv TM400m, sugerând că aceste eforturi sunt suficient de intense pentru a crește presiunea și volumul cardiac care să declanșeze secreția și eliberarea hormonilor în sânge.

Concluzii

- 1) Concentrația NT-proANP în plasmă a crescut atât în timpul efortului maximal cât și a eforturilor submaximale fără a atinge însă valori semnificative statistic.
- 2) NT-proBNP plasmatic a crescut semnificativ statistic cu toate tipurile de efort dar a corelat mai bine cu testele maximale decât cu testele submaximal
- 3) TM6M și TM 400m, sunt suficiente ca intensitate și durată pentru a iniția eliberarea de hormoni natriuretici cardiaci. Ele pot fi folosite ca o alternativă a TE maximal clasic limitat de simptom
- 4) Ambele teste au valoare similară în evaluarea capacității funcționale submaximale la pacienții cu IC sistolică
- 5) TM 400m poate evalua mai bine afectarea mușchilor periferici-distanța de mers fiind aceeași pentru toți bolnavii.
- 6) Cele două TE submaximale (TM6M și TM 400m) au valoare diagnostică egală la bolavii cu IC

Studiul 4 - Dinamica peptidelor cardiace în efortul izotonic și izometric la pacienții cu insuficiență cardiacă diastolică

Introducere

IC cu FEVS păstrată este o entitate clinică comună și este cel mai adesea atribuită disfuncției diastolice. Prezența și severitatea DD este constată folosind metode ecocardiografice complexe, dificil de standardizat și reproduș în practica clinică de rutină. În acest context clinic, măsurarea BNP sau NT-proBNP identifică și gradează pacienții cu DD.

Material și metodă

Am investigat de manieră prospectivă un număr de 87 de pacienții internați în Clinica de Recuperare-Cardiologie Cluj-Napoca, cu funcție sistolică VS păstrată și VS de dimensiuni normale dovedite prin măsurători ecocardiografice, hipertrofie ventriculară stângă (HVS), SIV și PPVS ≥ 12 mm.

Cei 87 de pacienți selectați după criteriile de mai sus au constituit 2 subgrupuri:

Grupul 1 format din 43 de pacienți, au fost supuși unui test de efort dinamic, la cicloergometru cu membrele inferioare, limitat de simptome, cu prelevarea de sânge venos înainte și imediat după efort, pentru a determina concentrația plasmatică peptidului cardiac de tip B (NT-proBNP).

Grupul 2 a fost reprezentat de 44 de pacienți cu caracteristici generale și ecocardiografice similare lotului I, care au fost supuși testului de efort de tip izometric cu membrul superior dominant, cu dinamometru (handgrip). Și la acest grup s-au recoltat 2 probe de sânge venos înainte și după testul efectuat cu dinamometru, la care s-au făcut determinări serice atât pentru peptidul natriuretic de tip A (NT-proANP), cât și anume pentru peptidul de tip B (fracțiunea NT-proBNP).

Rezultate și discuții

La grupul 1 au atins valori semnificative statistic, care să ateste prezența și gravitatea DD, parametrii fluxului transmitral, viteza undei E ($p<0.02$), a undei A ($p<0.001$), raportul vitezelor mitrale precoce și tardive a fluxului transmitral E/A ($p<0.001$), IVRT ($p<0.001$), TD ($p<0.001$), durata undei A a fluxului mitral ($p<0.04$), și parametrii combinați, raportul E/Vp ($p<0.01$), raportul E/Em măsurat la nivel septal ($p<0.03$) precum și PCWP estimată ($p<0.03$).

În grupul 2 la fel ca la grupul 1 au existat corelații semnificative între cele 2 subgrupuri (RA vs PSN+R) la măsurătorile fluxului transmitral pentru unda E, ($p<0.01$), unda A ($p<0.001$), raportul E/A ($p<0.001$), TD ($p<0.001$), IVRT ($p<0.001$), și PCPW ($p<0.03$). În plus au corelat pozitiv cu gravitatea DD, VESVS ($p<0.01$), VEDVS ($p<0.001$), iar dintre parametrii combinați pentru raportul E/Em la nivelul peretelui septal ($p<0.001$) și lateral ($p<0.001$).

Analiza modificărilor NT-proBNP repaus-efort izotonic la pacienții cu DD (lot IV, grup 1)

În condiții de repaus NT-proBNP a înregistrat o valoare medie de 1198.78 ± 741.85 pg/ml, care a scăzut cu efortul la 1007.87 ± 903.63 , reprezentând o scădere de 19% ($p=0.29$). Analiza concentrației plasmatice la subgrupul de pacienți cu relaxare alterată (30p), înainte de efort a arătat o valoare medie a NT-proBNP de 1000.33 ± 516.63 pg/ml, iar post efort de 800.51 ± 675.89 pg/ml, adică o scădere de 25% ($p=0.20$).

În subgrupul cu DD de tip pseudonormalizare și restrictiv (13 p), valoarea concentrației NT-proBNP de bază a fost 1656.75 ± 977.48 pg/ml, iar post efort a scăzut la 1486.38 ± 1182.51 , procentual cu -11% ($p=0.69$). Urmărită în ansamblu, dinamica NT-proBNP la grupul de pacienți supuși efortului izotonic a arătat o creștere cu efortul la 15 pacienți (34.9%) iar la de 28 pacienți (65.1%) o scădere cu efortul.

Analiza dinamicii NT-proANP și NT-proBNP în repaus vs. efort izometric la pacienții cu DD (lotul IV, grup 2)

În ce privește concentrația plasmatică a NT-proANP la pacienții supuși efortului izometric s-a constatat o valoare inițială medie de 16956.3 ± 19485.9 pg/ml care a crescut cu efortul la 17330.7 ± 17487.7 pg/ml, adică cu 2% ($p=0.93$).

În subgrupul de pacienți cu disfuncție diastolică de tip RA (30 p), media concentrației NT-proANP a scăzut de la 15480.5 ± 17889.7 pg/ml în repaus la $15.302.3 \pm 16058.3$ pg/ml reprezentând -1% ($p=0.97$). La subgrupul de pacienți cu DD tip pseudonormalizare + restrictiv, NT-proANP a crescut de la o valoare medie de repaus de 19171.0 ± 23270.0 pg/ml la o medie de 22167.9 ± 20376.2 pg/ml, reprezentând o creștere de 16% ($p=0.73$).

NT-proANP a fost sub limita valorilor normale măsurate în condiții de repaus și nu a depășit aceasta valoare nici după efort. Referitor la NT-proBNP a prezentat în repaus o medie de 2943.4 ± 2056.7 pg/ml care s-a redus la 2766.11 ± 2061.4 pg/ml în timpul efortului, adică cu -6% ($p=0.69$).

La pacienții din subgrupul cu relaxare alterată NT-proBNP a scăzut la efortul izometric de la 2309 ± 862.5 pg/ml la 2155.0 ± 801.1 pg/ml, -7% ($p=0.85$).

La cei cu modificări ale funcției diastolice de tip PSN+R, NT-proBNP a scăzut de asemenea cu efortul izometric de la 4455.4 ± 3127.7 pg/ml la 4223.3 ± 2318.3 pg/ml, scădere de 5% ($p=0.85$).

S-a efectuat analiza regresiei logistice multivariate și a AUC de sub curbele ROC a NT-proBNP înainte și după efort la grupurile 1 și 2 pentru a identifica presiunea de umplere VS anormală printr-un raport $E/Em > 8$ (sub aceasta valoare presiunea de umplere VS este considerată normală), obținându-se pentru BNP în repaus $AUC=0.70$ ($p=0.03$) și postefort $AUC=0.66$ ($p=0.06$).

Dintre alți parametri ecocardiografici ai funcției diastolice și ai capacității de efort, numărul de wați efectuați, ITT, indexul capacității de efort (exprimat ca W efectuați \times durata efortului), analizați la grupul 1, au rămas cu putere semnificativă statistic parametrii diastolici ai fluxului mitral, unda E $AUC=0.97$ (<0.01) și raportul E/A $AUC=0.86$ ($p<0.01$), parametrii miocardici ai DD măsurați TDI, unda Am $AUC=0.80$ ($p<0.01$), unda Em măsurată la inelul lateral VS (Em $AUC=0.84$), $p<0.001$, și un parametru al funcției sistolice miocardice Sm $AUC=0.75$, $p<0.001$).

Raportul E/Vp (unda E precoce a fluxului diastolic mitral /velocitatea de propagare a fluxului mitral AS-VS măsurat în modul M-color) ($AUC=0.91$, $p<0.01$) și capacitatea de efort ($W \times$ minute efort efectuate) ($AUC=0.72$, $p<0.01$) au îndeplinit de asemenea semnificație statistică înaltă.

Dintre parametrii capacității de efort izotonic aria de sub curbele ROC a atins valoare statistică semnificativă numai la un parametru al capacității, care combină durata efortului cu intensitatea efortului,

Regresia logistică multivariată și estimarea AUC efectuată la grupul 2, pentru a urmări performanța diagnostică a NT-proANP și NT-proBNP și parametrii diastolici măsurați ecocardiografic, au validat statistic BNP în repaus și postefort ($AUC=0.74$, $p<0.01$, $AUC=0.72$, $p<0.01$), unda E mitrală cu $AUC=0.97$ ($p<0.01$), unda A $AUC=0.71$ ($p<0.01$), raportul E/A ale fluxului mitral $AUC=0.84$ ($p<0.01$), Em și Am la nivelul inelului septal $AUC=0.82$, respectiv 0.74 ($p<0.01$), VASi- $AUC=0.75$ ($p<0.01$), TD- $AUC=0.68$ ($p=0.08$) prezintă o semnificație la limită, la fel și raportul E/Vp- $AUC=0.68$ ($p=0.08$) cu valori apropiate de semnificația statistică.

Concluzii

1). Măsurarea peptidelor plasmatice (în principal NT-proBNP), ca expresie a activării neurohormonale, este un test util atât în ICS, cât și în ICD.

2). Determinarea NT-proBNP în anumite situații poate completa ecocardiografia, împreună crescând acuratețea diagnostică mai ales la pacienții cu DD subclinică.

3). La bolnavii cu DD, NT-proBNP are valori de repaus semnificativ crescute, pe când NT-proANP nu crește semnificativ.

4). La bolnavii cu DD există o tendință de scădere a NT-proBNP atât în timpul efortului izotonic (dinamic), cât și a celui izometric

- 5). Dintre parametrii ecoDoppler, cei miocardici (TDI) și raportul E/Em corelează cel mai bine cu stadiile de gravitate ale DD.
- 6). NT-proBNP corelează cu stadiile mai avansate ale ICD (stadiul de pseudonormalizare și restricție), pe când DD ușoară (tip relaxare alterată) corelează slab cu NT-proBNP.
- 7). Ecografia Doppler furnizează informații importante asupra dinamicii de umplere VS și permite evaluarea funcției diastolice VS.
- 8). La pacienții cu disfuncție diastolică, funcția sistolică longitudinală a VS este deja scăzută, chiar dacă au FEVS normală.
- 9). Peptidele natriuretice (ANP, BNP) nu se modifică semnificativ cu efortul la pacienții cu funcție sistolică păstrată și disfuncție diastolică.
- 10). Un test izometric scurt (handgrip), nu influențează semnificativ disfuncția diastolică VS estimată prin raportul E/Em.
- 11). Funcția diastolică VS poate fi evaluată într-o primă etapă prin măsurarea raportului E/A și a timpului de decelerare.

Studiul 5 - Peptidele cardiace în timpul testului de efort la pacienții cu IC ischemică versus non-ischemică

Scop

Deși majoritatea cazurilor de IC sunt de origine ischemică încă nu era stabilit dacă ischemia în sine contribuie la creșterea nivelului peptidelor cardiace în timpul efortului.

Scopul nostru a fost de a clarifica acest aspect și de a stabili dacă în cazul pacienților cu insuficiență cardiacă ischemică eliberarea peptidelor cardiace în timpul efortului este similară celei observate în cazul pacienților cu insuficiență cardiacă non-ischemică.

Material și metodă

Au fost luați în studiu 50 de pacienți cu IC din care 32 de pacienți cu boală ischemică și 18 cu boală cardiacă non-ischemică, 35 bărbați și 15 femei, cu vârsta medie de $61 \pm 11,61$ ani. Etiologia ischemică a fost stabilită după 2 criterii: istoric clinic de infarct miocardic (incluzând unda Q pe ecg, revascularizare miocardică percutană și/sau chirurgicală în antecedente), respectiv coronarografie.

Rezultate și discuții

Valorile în repaus ale NT-proBNP ($836,40 \pm 590,6$ fmol/ml) și NT-proANP (2628 ± 2514 fmol/ml) au depășit cu mult valorile normale. Când am analizat separat pacienții ischemici și non-ischemici atât NT-proBNP cât și NT-proANP au avut valori mai mari la pacienții non-ischemici ($1104,33 \pm 730$ fmol/ml; 3275 ± 3314 fmol/ml) față de pacienții ischemici ($685,68 \pm 452$ fmol/ml; 2265 ± 2552 fmol/ml), dar cu diferența semnificativă numai pentru NT-proBNP ($p=0,016$). $p < 0,05$.

În repaus, atât NT-proBNP cât și NT-proANP au avut valori mai mari la bolnavii cu boală cardiacă non-ischemică ($1104,33 \pm 730$; $3275,55 \pm 3314$) decât la pacienții cu boală cardiacă ischemică ($685,68 \pm 452$; $2265,80 \pm 2552$) dar cu diferență semnificativă numai pentru NT-proBNP ($p=0,016$). În timpul efortului, NT-proBNP crește de la $836,40 \pm 596$ la $1403,92 \pm 2126$ și NT-pro ANP de la $2628,80 \pm 2903$ la $3701,30 \pm 3237$, valorile finale fiind din nou mai mari la pacienții cu boală cardiacă non-ischemică (NT-proBNP- $2495,44 \pm 2257$; NT-proANP- 4637 ± 3655), față de cei cu insuficiență cardiacă ischemică; pentru NT-proBNP $p < 0,05$. Rezultatele sugerează că efectul de „stretching” este mai mare în -timpul efortului- la nivel ventricular decât la nivel atrial (creștere de 67% pentru NT-proBNP și numai 40% pentru NT-proANP).

Valorile mari în repaus atât ale NT-proBNP cât și ale NT-proANP confirmă severitatea IC la grupul studiat și susțin acuratețea comparării dintre pacienții ischemici și non-ischemici ¹⁷²

Ambele peptide cardiace au avut valori semnificativ mai mari la pacienții cu IC non-ischemică sugerând că ischemia miocardică cronică nu este un stimul foarte puternic pentru peptidele cardiace, în special pentru eliberarea BNP.

Concluzii

1. Chiar dacă ischemia miocardică acută și cronică reprezintă o cauză a creșterii nivelurilor plasmaticice a peptidelor cardiace, nu este un stimul mai important decât performanța cardiacă anormală.

2. La pacienții cu insuficiență cardiacă creșterea peptidelor cardiace este mai degrabă în relație cu performanța cardiacă și mai puțin cu etiologia insuficienței cardiace.

3. Peptidele cardiace sunt crescute, atât în repaus cât și în timpul efortului la pacienții cu insuficiență cardiacă non-ischemică comparativ cu cei cu insuficiență cardiacă ischemică, probabil în relație cu funcția sistolică ventriculară stângă mai redusă.

Concluzii generale

1). Peptidele natriuretice sunt markeri ai severității insuficienței cardiace și ai diagnosticului diferențial al dispneei cardiace.

2). Porțiunile N-terminale ale proANP și proBNP sunt mai stabile în plasmă decât porțiunile C-terminale, având timpi de înjumătățire semnificativ mai mari, motiv pentru care au fost utilizate în testele clinice disponibile comercial.

3). BNP are acuratețe mare când se compară cu FE determinată ecocardiografic pentru diagnosticul insuficienței cardiace.

4). O valoare BNP plasmatică crescută nu poate diferenția IC sistolică de cea diastolică dar poate stabili prezența insuficienței cardiace prin disfuncție diastolică cu o acuratețe similară ca pentru disfuncția sistolică.

5). Nivelurile plasmaticice ale BNP indică severitatea bolii la pacienții cu ICD izolată.

6). Starea funcțională a pacienților cu ICD este detectată obiectiv prin testarea de efort.

7) La pacienți cu disfuncție diastolică, funcția longitudinală VS este modificată chiar dacă FEVS este păstrată.

8). Peptidele cardiace-ANP și BNP sunt crescute în repaus la pacienții cu disfuncție diastolică, dar nu s-au modificat semnificativ cu efortul.

9) Diagnosticul de IC nu se stabilește numai pe baza unui test de laborator sau pe baza unei ecocardiograme ci într-un context clinic, folosind aceste teste pentru a îmbunătății judecata clinică.

10) Toate modalitățile de abordare a funcției cardiace, biomarkerii noi, metodele imagistice și utilizarea diferitelor tipuri de efort, ne ajută să evaluăm mai acurat pacienții cu IC, să înțelegem boala, să statificăm riscul acestora și să aplicăm terapia necesară.

Teza a acoperit 199 referințe bibliografice recente.

**„JULIU HAȚIEGANU” UNIVERSITY
OF MEDICINE AND PHARMACY - CLUJ-NAPOCA**

Diagnostic and prognostic significance of natriuretic peptides in heart failure

ABSTRACT of the DOCTORAL THESIS

PhD student: **Maria Ilea**

Scientific supervisor: **Prof. Dr. Dumitru Zdrenghea**

Cluj-Napoca, 2012

SUMMARY

List of publications	3
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	3
Introduction	3
Definition of heart failure	4
Terminology	4
PERSONAL CONTRIBUTIONS	5
Kinetics of cardiac peptides in different types of exercise testing in patients with systolic heart failure	5
Research objectives	5
Methodology	5
1st Study - Cardiac peptides at rest and during standard exercise testing in HF patients with dilated cardiomyopathy	6
Aim	6
Materials and methods	6
Results and discussion	6
Conclusions	6
2nd Study - Cardiac peptides' dynamics during exercise testing on leg and arm cyclo-ergometer in patients with systolic heart failure	7
Aim	7
Materials and methods	7
Results and discussion	7
Conclusions	7
3rd Study - The effect of maximal versus sub-maximal exercise testing on cardiac peptides' release in patients with systolic heart failure	7
Aim	7
Materials and methods	8
Results and discussion	8
Conclusion	8
4th Study - Cardiac peptides' dynamics in isotonic exercise testing and isometric handgrip in patients with diastolic dysfunction and diastolic heart failure	8
Aim	8
Materials and methods	9
Results and discussion	9
Conclusion	10
5th Study - Cardiac peptides during exercise testing in ischemic and non-ischemic heart failure patients	11
Aim	11
Materials and methods	11
Results and discussion	11
Conclusions	11
General Conclusions	12

LIST OF PUBLICATIONS

In extenso articles published as result of doctoral research

- **Ilea M**, Zdrenghea D, Bodisz G, Giurgea N, Gheorghiu L, Predescu D, Beudean M, Ossian V, Gligor E, Vlad C, Pop D, Bogdan E, Roşu R. Cardiac peptides during exercise in patients with heart failure. Clujul Medical 2009;82(1):51-54. *CNCIS.B+*.
- Zdrenghea D, **Ilea M**, Pop D, Petrovai D, Zdrenghea M. Cardiac peptides during exercise in patients with systolic and diastolic heart failure. Acta Endocrinologica. 2009, 5, 19-25, ISI Relative Impact Factor: 0.003; Citations: 0.257; Reference Impact Factor: 3.884; Impact: 0.260; Individual Impact: 0.043
- **Ilea M**, Zdrenghea D, Bodisz G, Malai A, Gheorghiu L, D. Predescu, Beudean M, Ossian V, Gligor E, Vlad C, Pop D, Bogdan E, Roşu R. Cardiac peptides during exercise test in ischemic and non-ischemic heart failure patients. Romanian Journal of Internal Medicine 2008;46(1):63-68.

Keywords: systolic and diastolic heart failure, atrial natriuretic peptide (ANP), B-type natriuretic peptide (BNP), dynamic exercise testing, isometric exercise testing (handgrip), 6 minutes walk test (6MWT), 400m walk test, conventional echocardiography, tissue Doppler echocardiography (TDI)

CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

Introduction

Heart failure (HF) is a major public health problem in all industrial and post-industrial societies considering its high prevalence and increased mortality and also the high socio-economical costs.

Heart failure is a major clinical syndrome that, in spite of any treatment, constitutes the end stage of most cardiovascular diseases. 5 years overall mortality is approximately 60%, while the annual rate is conditioned by the severity of the syndrome. Thus, annual mortality is 2-5% in NYHA I-II classes, 15% in NYHA III class and above 25% in NYHA IV class.

Since HF is a complex clinical syndrome it is difficult to be diagnosed based on symptoms reflecting cardiac problems alone, especially in early stages of the disease.

Although the atrial natriuretic peptide (ANP) was discovered 50 years ago, clinical testing of the cardiac peptides (ANP and BNP) as biochemical diagnostic and prognostic markers in HF were conducted but during the last 20-30 years.

Both peptides show increased plasmatic levels in patients with chronic heart failure. It is known that in healthy subjects and HF patients ANP blood level increases during exercise, while BNP response to exercise is less clear. Previous studies have shown a lesser increase of the N-terminal portions of the ANP and BNP in response to exercise compared to the C-terminal portions, although the N- and C-terminals are secreted in echi-molecular (1:1) manner. Different half-life times ($T_{1/2}$) seem to evidentiare changes in relative and absolute responses to exercise.

In this paper we aimed to study the differential response of NT-proANP and NT-proBNP peptides to different types of dynamic or isometric (handgrip) effort in the accurate early clinical assessment of cardiovascular disease in HF patients selected by clinical and echocardiographic criteria.

Definition of heart failure

According to the ESC Guidelines, HF is defined as a clinical syndrome when the following criteria are met:

- 1) Clinical symptoms of heart failure: breathlessness at rest or on exercise, fatigue, tiredness and ankle swelling,
- 2) Typical HF signs such as: tachycardia, tachypnea, pulmonary rales, increased jugular venous pressure, peripheral edema, hepatomegaly,
- 3) Objective evidence of structural or functional abnormalities of the heart at rest: cardiomegaly, 3rd heart sound, cardiac murmurs, echocardiographic changes and elevated natriuretic peptides blood levels.

Terminology

A distinction between systolic heart failure (SHF) and diastolic heart failure (DHF) is important because the DHF seems to be associated with better long-term survival. In the Framingham study DHF was associated with an annual mortality rate of 8.7% compared to a 18.9% rate for SHF.

Diastolic dysfunction (DD) is a progressive condition highlighting LV inability to fill and maintain stroke volume without a compensatory increase of ventricular filling pressure. DD is associated with a disproportionate increase in LV end-diastolic pressure, reflected in a corresponding increase in LA and pulmonary venous pressures. Increased end-diastolic LV pressure and reduced anterograde cardiac output triggers neurohormonal activation.

Dyspnea is a cardinal sign of left ventricular failure and can be manifested as progressively increasing severity on exercise, orthopnea, paroxysmal nocturnal dyspnea, dyspnea at rest or even acute pulmonary edema.

"Cardiac dysfunction" encompasses a broader range than HF alone, including the asymptomatic ventricular dysfunction (systolic, diastolic or systolic and diastolic) as well.

Asymptomatic ventricular systolic dysfunction implies the presence of cardiomegaly and low LV ejection fraction (LVEF) and frequently occurs in patients with impaired LV.

Asymptomatic ventricular diastolic dysfunction implies left ventricular hypertrophy (LVH), non-dilated LV and normal or near normal LV ejection fraction.

A current debate topic is whether HF is present and evolves as a singular syndrome with preserved LVEF preceding HF with low EF, or whether these are two different syndromes, one with eccentric LV remodeling combined with systolic and diastolic dysfunction and another with concentric LV remodeling primarily manifested as LV diastolic dysfunction.

It is now clear that all HF patients present abnormalities in both the systolic and diastolic functions. However, the coexistence of these functional abnormalities does not necessarily imply that DHF and SHF are parts of a continuum. There are significant differences between SHF and DHF that justify their separation into different syndromes. Therefore, patients with HF and preserved LVEF may have relatively small but detectable anomalies of the systolic function. For this reason "HF with preserved LVEF" is a term that should be avoided. There are no data to support the idea that contractility abnormalities are responsible for signs and symptoms of HF or for pathophysiological remodeling observed in patients with DHF. DHF patients show concentric LV remodeling characterized by increased LV mass, normal LV volume, increased wall thickness, decline in the volume/mass ratio and myocardial stiffness. Thus, the presence of abnormal contractility indexes in patients with DHF does not exclude the idea that DD is the dominant abnormality. Thus, HF is predominantly induced in patients with DHF by abnormalities in the diastolic function.

To summarize, left ventricular systolic and diastolic functions are coupled and inseparable processes. The concept of isolated diastolic heart failure might have been based on the fact that LVEF alone, although considered a robust diagnostic criterium, is not sensitive enough to detect subtle changes in the myocardial systolic function.

PERSONAL CONTRIBUTIONS

Kinetics of cardiac peptides in different types of exercise testing in patients with systolic and diastolic heart failure

Research objectives

Although current technical means could help establish early diagnosis and treatment of asymptomatic systolic or diastolic heart failure patients, such subjects (half of overall number) remain largely under-diagnosed.

This research aimed to study changes seen in patients suspected of heart failure based on clinical signs and echocardiographic evidence in the serum levels of cardiac peptides measured in basal conditions and after different exercise tests.

Methodology

A number of 264 patients from the Cardiology Department of the Clinical Rehabilitation Hospital in Cluj-Napoca selected for this prospective study during the 2005-2006 interval, were divided into five groups depending on HF diagnostic (systolic or diastolic) and the type of effort they were subjected to.

Ist lot included 58 patients with dilated cardiomyopathy and systolic heart failure undergoing exercise testing on the cycloergometer.

IInd lot consisted of 29 patients with HF and dilated cardiomyopathy that have conducted two consecutive exercise tests on both leg and arm-ergometer.

IIIRD lot included 20 patients with systolic HF and DCM subjected to three tests: a maximal effort test on the leg-ergometer and two submaximal tests, a 6 minutes walk test and a 400 m walk test.

IVth was formed by 87 patients with clinical and echocardiographic signs of diastolic dysfunction and diastolic heart failure. They in turn were sub-divided into two subgroups according to DD severity: a subgroup of 44 patients with diastolic dysfunction performed the isotonic exercise test on a leg-ergometer and another subgroup of 43 patients with diastolic dysfunction performed in consecutive days both the isotonic exercise test on a leg-ergometer and the isometric handgrip test using a dynamometer.

Vth lot included 50 ischemic and non-ischemic HF patients on which cardiac peptides were determined before and after standardized effort tests on a cyclo-ergometer, compared with a control group of 20 patients.

Sinoptics of the studied groups

	Patients	Natiriuretic peptides measured	HF	Effort test
Lot I	58	NT-proANP, NT-proBNP (Biomedica-Roche)	systolic	leg-ergometer
Lot II	29	NT-proANP, NT-proBNP (Biomedica-Roche)	systolic	arm-ergometer vs leg-ergometer
Lot III	20	NT-proANP, NT-proBNP (Biomedica-Roche)	systolic	leg-ergometer vs 6 min walk test and 400m walk test
Lot IV	87	Group 1: 43 p-NT-proBNP Group 2: 44p-NT-proANP+ NT-pro BNP (Roche Diagnostics)	diastolic	43 p leg-ergometer 44 p handgrip vs. leg-ergometer
Lot V	50+20	NT-proANP, NT-proBNP (Biomedica-Roche)	systolic	lwg-ergometer
TOTAL	264			

P=pacient, HF= heart failure

In all 264 patients two measurements of ANP and BNP or (subject to availability) of the NT-proANP and NT-proBNP segments were conducted in basal conditions and immediately after each effort.

Echocardiographic measurements were performed on an Accuson XP 128 machine with probes of 3.5 Hz at rest in all patients in order to group them pending on systolic or diastolic dysfunction.

Isotonic exercise test was performed with a Kettler bicycle (Siemens) while the isometric effort was conducted using a hand dynamometer regularly employed in gyms.

We studied the dynamics of ANP and BNP and of their respective NT segments in all kinds of effort tests compared to basal values. The following echocardiographic parameters were measured: LV ejection fraction, MAPSE, conventional and tissue Doppler parameters of diastolic function, LV and LA dimensions, LA volume, the venous flow in the pulmonary vein and mitral flow propagation velocity in color M-mode. Effort parameters, namely duration (in minutes) and effort intensity (in W, ITT), systolic and diastolic BP, heart rate before and after exercise, the distance traveled in 6 minutes (in meters), the time elapsed after 400 m walk (in minutes) and the force index (kg/sqm) after isometric effort. were analyzed.

1st Study – Cardiac peptides at rest and during standard exercise testing in HF patients with dilated cardiomyopathy (lot I)

Aim

We aimed to study the comparative behavior of cardiac peptides' at rest and after standardized effort testing on a leg-egometer in patients with systolic heart failure due to dilated cardiomyopathy (DCM).

Methods

We followed 58 patients admitted to the Cardiology Rehabilitation Hospital diagnosed with dilated cardiomyopathy and chronic HF of ischemic or non-ischemic etiology, presenting EF \leq 40%, systolic BP <160 mm Hg, with no diastolic dysfunction [E/A ratio >1 and E wave deceleration time of transmitral flow greater than 150 ms, but less than 240 ms ($150 \text{ ms} < E_{dt} < 240 \text{ ms}$)], without clinical signs of cardiac decompensation, able to perform a bicycle exercise test. Plasmatic levels of NT-proANP, NT-proBNP were measured before and after standardized effort testing.

Results and discussion

Both peptides revealed significantly increased levels during exercise testing: NT-proANP level increased 51% from 2448 fmol/ml (normal value below 1940 fmol/ml) to 3706 fmol/ml ($p = 0.01$, $r = 0.83$) while the NT-proBNP level presented a 69% increase from 749 fmol/ml (normal value 250 fmol/ml) to 1264 fmol/ml ($p = 0.01$, $r = 0.40$).

When comparing plasma NT-proANP and NT-proBNP levels at peak effort a moderate but significant correlation between the 2 peptides was also found ($p = 0.01$, $r = 0.40$).

When compared with the NYHA classes, ANP values after effort significantly correlated only with NYHA classes III + IV ($p < 0.05$, $r = 0.81$), not with NYHA class II ($p = 0.87$).

The analysis of NT-proANP and NT-proBNP dynamics in patients with atrial fibrillation revealed significant correlations between rest and peak effort levels for both NT-proANP ($r=0.94$; $p<0.01$) and NT -proBNP ($r=0.88$, $p < 0.01$). Significant correlations were found between atrial fibrillation and NT-proBNP measured at rest, but not between atrial fibrillation and NT-proANP measured at rest.

Conclusions

- 1). NT-proANP showed normal plasma levels in basal conditions.
- 2). The plasma levels of the NT-proBNP at rest were increased in patients with systolic HF and dilated cardiomyopathy.
- 3). Compared to NT-proBNP, NT-proANP plasma levels correlated better with effort testing.
- 4). Cardiac peptides can provide an alternative for rapid diagnostic when echocardiography is not available or is inconclusive.
- 5). In patients with SHF and AF both peptides' levels increased at effort, but in basal conditions only NT-proBNP levels were elevated.
- 6). Both peptides can be used in evaluating HF, but NT-proANP correlates better with the effort level and baseline NT-proBNP with the severity of disease.

2nd Study - Cardiac peptides' dynamics during exercise testing on leg and arm cyclo-ergometer in patients with systolic heart failure (lot II)

Aim

Comparative study of cardiac peptides' (NT-proANP and NT-proBNP) dynamics during exercise testing on leg- and arm-ergometer in patients with ischemic and non-ischemic HF and dilated cardiomyopathy.

Methods

29 patients aged 37-76 years (mean age 56), 9 women (31%) and 20 men (69%), of whom 22 (76%) presented ischemic coronary heart disease and 7 (24%) non-ischemic heart disease, 12 of them (41%) with atrial fibrillation in functional NYHA classes II-IV, were investigated in the Cardiology Department of the Clinical Rehabilitation Hospital in Cluj-Napoca. All patients performed symptoms-limited maximal exercise tests on leg- and arm-ergometer in consecutive days.

Results and discussion

The plasma concentration of NT-proANP significantly correlated between the two tests consecutively performed on leg- and arm-ergometer ($p < 0.01$, $r = 0.88$). Likewise, during the exercise testing the NT-proBNP concentration significantly correlated ($p < 0.01$, $r = 0.78$) between the two methods (legs vs. arms).

Analysis of the correlation between cardiac peptides' level at rest and LV performance parameters showed positive correlations for AS, DDVS and LVEF, demonstrating that peptides can evaluate the severity of the heart failure and the myocardial impairment of cardiac performance as well.

In the early stages of HF values rest of the cardiac peptides can be normal. In this phase both tests (leg- and arm-ergometer) can be equally used to expose the low cardiac performance and to provide an accurate diagnosis of HF development.

Conclusions

1). NT-proANP and NT-proBNP show similar increases during the effort tests with the legs or arms, suggesting a similar hemodynamic loading although the maximal effort level is almost one third lower on the arms ergometer.

2). In clinical practice we can confidently use both tests for evaluation and training of patients with systolic HF, as there is a high correlation between the effort performed by legs and arms.

3). Evaluation of cardiac peptides at rest and during exercise is useful in the diagnosis and evaluation of patients with HF.

3rd Study – The effect of maximal versus sub-maximal exercise testing on cardiac peptides' release in patients with systolic heart failure (lot III)

Aim

To study the effect of various types of sub-maximal exercise tests on the release of cardiac peptides in patients with systolic heart failure and dilated cardiomyopathy.

Methods

We studied 20 patients with dilated cardiomyopathy and systolic HF, mean age 55 years (range 37-70 years), 16 men/4 women, of whom 14 patients presented ischemic heart failure and 6 non-ischemic heart failure. All patients performed three different exercise tests in similar conditions (at the same time in the morning) on 3 consecutive days: maximal effort test on the leg-ergometer, sub-maximal 6 min walk test (6MWT) and 400m walk test (400mWT).

Results and discussion

Comparison between NT-proANP plasma levels during the maximum effort test on the leg-ergometer and the two sub-maximal efforts did not yield statistically significant results:

leg-ergometer vs 6MWT: $p = 0.1$, $r = 0.37$;

leg-ergometer vs 400mWT: $p = 0.22$, $r = 0.28$.

In contrast, NT-proBNP blood levels achieved statistical significance:

leg-ergometer vs 6MWT: $p < 0.01$, $r = 0.71$;

leg-ergometer vs 400mWT: $p < 0.01$, $r = 0.81$.

When comparing the two submaximal effort tests, NT-proANP concentration variance was statistically significant ($p = 0.02$, $r = 0.5$), while NT-proBNP yielded highly significant results ($p < 0.01$, $r = 0.71$). The increase of the cardiac peptides' level during maximal and sub-maximal efforts suggest that these efforts are sufficiently intense to increase cardiac pressure and volume to a level that would trigger secretion and release of hormones in the blood.

Conclusions

1) NT-proANP plasma concentration increased during maximal and sub-maximal effort but not enough to reach statistically significant values.

2) NT-proBNP plasma concentration increased significantly in all effort tests but correlated better with the maximal test compared to the sub-maximal tests.

3) The intensity and duration of the 6 min walk and 400m walk tests are sufficient to initiate the release of cardiac natriuretic hormones. These tests can be used as an alternative to the traditional symptom-limited maximal effort testing.

4) Both tests have similar value in assessing submaximal functional capacity in patients with systolic HF.

5) The 400m walk test can better assess the impairment of peripheral muscles, since walking distance is the same for all patients.

6) The two submaximal effort testing have equal diagnostic value in HF patients.

4th Study - Cardiac peptides' dynamics in isotonic exercise testing and isometric handgrip in patients with diastolic dysfunction and diastolic heart failure (lot IV)

Aim

HF with preserved LVEF is a fairly common HF clinical entity often attributed to diastolic dysfunction. The presence and severity of DD is found using complex echocardiographic methods that are difficult to standardize and reproduce in routine clinical practice. In this context we aimed to observe correlations between DD echocardiographic parameters and plasmatic levels of NT-proANP and NT-proBNP, as well as the peptide dynamics during isometric and isotonic exercises.

Methods

We prospectively investigated a number of 87 patients hospitalized in the Cardiology Department of the Clinical Rehabilitation Hospital in Cluj-Napoca presenting preserved LV systolic function and normal LV size (proven by echocardiographic measurements), left ventricular hypertrophy (LVH), LV inter-ventricular septum and LV posterior wall ≥ 12 mm.

The 87 patients selected by the above mentioned criteria were divided into two groups. Group I consisted in 43 patients subjected to symptoms- limited dynamic exercise testing on leg-ergometer. Venous blood was sampled before and immediately after exercise to determine plasma levels of NT-proBNP. Group II was represented by 44 patients with general characteristics and echocardiographic data similar to group I, who underwent isometric exercise testing for the dominant upper limb on a dynamometer (handgrip). Venous blood was similarly sampled before and immediately after isometric exercise testing on the dynamometer for both NT-proANP and NT-proBNP.

Results and discussion

In group 1 several parameters of the transmitral flow reached statistically significant values between the subgroups with altered relaxation vs pseudo-normal and restrictive filling, indicating the presence and severity of DD, namely E wave velocity ($p < 0.02$), A wave velocity ($p < 0.001$), early and late E/A mitral velocity ratio of transmitral flow ($p < 0.001$), iso-volumic relaxation time (IVRT, $p < 0.001$), deceleration time (DT) ($p < 0.001$), mitral flow A wave duration ($p < 0.04$), and also combined parameters such as the E/Vp ratio ($p < 0.01$), the septal E/Em ratio ($p < 0.03$) and the estimated pulmonary capillary wedge pressure PCWP ($p < 0.03$).

Similarly in group 2 several significant correlations between the two subgroups (altered relaxation AR vs pseudo-normal and restrictive filling PSN + R) were found in regard to transmitral flow measurements for E wave ($p < 0.01$), A wave ($p < 0.001$), E/A ratio ($p < 0.001$), TD ($p < 0.001$), IVRT ($p < 0.001$) and PCPW ($p < 0.03$). In addition were positively correlated with severity of DD the following: LV end-systolic volume (ESVLV) ($p < 0.01$), LV end-diastolic volume EDVLV ($p < 0.001$). Concerning the combined parameters, the E/Em ratio in the septal ($p < 0.001$) and lateral wall ($p < 0.001$) were statistically significant

Analysis of NT-proBNP dynamics at rest vs. isotonic exercise in patients with DD (lot IV, group 1)

NT-proBNP average value at rest (1198.78 ± 741.85 pg/ml) decreased 19% ($p = 0.29$) to 1007.87 ± 903.63 during the isotonic effort testing. Analysis of serum levels in patients with impaired relaxation (a subgroup of 30p) showed a mean NT-proBNP value of 1000.33 ± 516.63 pg/ml before exercise and 675.89 ± 800.51 pg/ml post-effort mean value, indicating a 25 % decrease ($p = 0.20$).

In the pseudonormal and/or restrictive DD subgroup (13 p), NT-proBNP basal concentration was 1656.75 ± 977.48 pg/ml, and post-exercise value decreased 11% ($p = 0.69$) to 1486.38 ± 1182.51 .

NT-proBNP dynamics on the whole group of patients undergoing isotonic exercise testing (group 1)-showed a post- effort increase in 15 patients (34.9%) and a post- effort decrease in 28 patients (65.1%).

The analysis of NT-proANP and NT-proBNP dynamics at rest vs. isometric exercise in patients with DD (lot IV, group 2)

Concerning the plasma concentration of NT-proANP in patients subjected to isometric exercise the base-line average value of 16956.3 ± 19485.9 pg/ml increased post-effort to 17330.7 ± 17487.7 pg/ml, i.e. 2% ($p = 0.93$).

In the impaired relaxation DD subgroup (30p), the average concentration of NT-proANP decreased 1% ($p = 0.97$) from $15.480.5 \pm 17.889.7$ pg/ml at rest to $15.302.3 \pm 16058.3$ pg/ml.

In the subgroup of patients with pseudo-normal and restrictive DD, NT-proANP increased 16% ($p = 0.73$) from an average of 19.171 ± 23270.0 pg/ml at rest to a post-effort average of $22.167.9 \pm 20.376.2$ pg/ml.

NT-proANP was below normal value measured at rest and did not exceed the reference value even after effort. NT-proBNP at rest average of 2943.4 ± 2056.7 pg/ml decreased to 2766.11 ± 2061.4 pg/ml during exercise, i.e. 6% ($p = 0.69$).

In patients from the subgroup with impaired relaxation NT-proBNP decreased after the isometric effort from 2309 ± 862.5 pg/ml to 2155.0 ± 801.1 pg/ml (7%, $p = 0.85$).

In the pseudonormal + restrictive DD subgroup NT-proBNP also decreased after the isometric effort from 4455.4 ± 3127.7 pg/ml to 4223.3 ± 2318.3 pg/ml (5%, $p = 0.85$).

Multivariate logistic regression analysis was performed and the area under the ROC curves were calculated for NT-proBNP levels before and after exercise in groups 1 and 2 (isotonic vs. isometric efforts) to identify abnormal LV filling pressure by a E/Em ratio above 8 (below this value LV filling pressure is considered normal), resulting in the BNP at rest AUC = 0.70 ($p = 0.03$) and post-effort AUC = 0.66 ($p = 0.06$).

Among other echocardiographic parameters of diastolic function and exercise capacity measured for group 1 (the number of watts charged on the cycle-ergometer, TTI, exercise capacity index (expressed as number of Watts charged X exercise duration), statistical significance was found for two diastolic parameters of mitral flow, E wave

(AUC = 0.97, $p < 0.01$) and the E/A ratio (AUC = 0.86, $p < 0.01$), and three myocardial parameters of DD measured by TDI, the Am wave (AUC = 0.80, $p < 0.01$), the Em wave measured at the side/lateral ring of the LV (Em AUC = 0.84), $p < 0.001$, and a measure of myocardial systolic function Sm (AUC = 0.75, $p < 0.001$).

E/Vp ratio (mitral early diastolic E wave/LA-LV mitral flow propagation velocity measured in M-mode color) (AUC = 0.91, $p < 0.01$) and the exercise capacity (W x minutes of effort testing) (AUC = 0.72, $p < 0.01$) also presented high statistical significance.

Among isotonic exercise capacity parameters the area under ROC curves reached statistical significance in only one item combining exercise duration (min) with intensity of effort (watts).

Conducted in order to establish the diagnostic performance of NT-proANP/ NT-proBNP and of the echocardiographic parameters of diastolic measured, multivariate logistic regression and estimation of AUC in group 2 statistically validated at rest (AUC = 0.74, $p < 0.01$) and post-effort BNP (AUC = 0.72, $p < 0.01$), mitral E wave (AUC = 0.97, $p < 0.01$), A wave (AUC = 0.71, $p < 0.01$), mitral flow E/A ratio (AUC = 0.84, $p < 0.01$), Em (AUC = 0.82, $p < 0.01$) and Am (AUC = 0.74, $p < 0.01$) waves at the septal ring, VASi (AUC = 0.75, $p < 0.01$). Other echographic parameters, namely TD (AUC = 0.68, $p = 0.08$) and the E/Vp ratio (AUC = 0.68, $p = 0.08$) yielded values close to statistical significance.

Conclusions

- 1). Measurement of plasmatic concentrations of the NT-proBNP peptide as an expression of neurohormonal activation is a useful test both in SHF and DHF.
- 2). In certain situations NT-proBNP measurements can complete echocardiography data, adding to the diagnostic accuracy in patients with subclinical DD.
- 3). In patients with DD, the NT-proBNP values are significantly elevated at rest, in contrast to the NT-proANP values.
- 4). In patients with DD, NT-proBNP tends to decrease both after isometric and isotonic effort.
- 5). Of the ecoDoppler parameters, the myocardial ones (Am, Em) and the E/Em ratio correlates best with DD severity.
- 6). NT-proBNP correlates well with advanced (pseudonormal and restrictive) stages of DHF and poorly with less severe DD (impaired relaxation type).
- 7). Doppler Echography provides important information on LV filling dynamics and helps assessing LV diastolic function.
- 8). In patients with diastolic dysfunction, systolic longitudinal LV function is already low even with a normal LVEF.
- 9). Natriuretic peptides (ANP, BNP) levels do not change significantly during exercise in patients with preserved systolic function and diastolic dysfunction.
- 10). A short isometric test (handgrip) does not significant influence LV diastolic dysfunction assessed by the E/Em ratio.
- 11). LV diastolic function can in a first instance be evaluated by measuring the E/A ratio and deceleration time.

5th Study - Cardiac peptides during exercise testing in ischemic and non-ischemic heart failure patients (lot V)

Aim

Although the majority of HF cases are of ischemic etiology, whether ischemia in itself contributes or not to an increased level of cardiac peptides during exercise was yet to be established.

Our aim was to establish whether the release of cardiac peptides in ischemic heart failure patients is similar to the one seen in non-ischemic heart failure patients.

Methods

50 HF patients (32 ischemic, 18 non-ischemic/ 35 men, 15 women), mean age 61 ± 11.61 years, were included in the study. Ischemic etiology was established based on two criteria: clinical history of myocardial infarction (including Q wave on ECG, percutaneous myocardial revascularization and previous surgery) or coronary angiography.

Results and discussion

At rest, both NT-proBNP and NT-proANP values were higher in patients with non-ischemic heart failure (1104.33 ± 730 , 3275.55 ± 3314) than in patients with ischemic heart failure (685.68 ± 452 , 2265.80 ± 2552), but significant differences were seen only for NT-proBNP ($p = 0.016$). During exercise testing, NT-proBNP increased from 836.40 ± 596 to 1403.92 ± 2126 while NT-pro ANP raised from $2628,80 \pm 2903$ to 3701.30 ± 3237 , again post-effort values being higher in patients with non-ischemic heart disease (NT-proBNP- $2495,44 \pm 2257$, NT-proANP, 4637 ± 3655) than in those with heart failure (statistical significance for NT-proBNP, $p < 0.05$). The results suggest that during the exercise the "stretching" effect is higher at ventricular level (67% increase for NT-proBNP) than at atrial level (40% increase for NT-proANP).

High at rest levels of NT-proBNP and NT-proANP confirm the HF severity and accuracy of ischemic vs. non-ischemic patients' comparison in the studied group.

Both peptide levels were significantly higher in patients with non-ischemic HF, suggesting that chronic myocardial ischemia is not a powerful stimulus for cardiac peptides' release, BNP in particular.

Conclusions

1. Although acute and chronic myocardial ischemia is a cause of increased plasmatic levels of cardiac peptides, it remains a less important stimulus compared to abnormal cardiac performance.
2. In patients with heart failure cardiac peptides' increase is related to cardiac performance rather than heart failure etiology.
3. Cardiac peptides are increased both at rest and during exercise in patients with non-ischemic heart failure compared to those with ischemic heart failure, probably due to a reduced left ventricular systolic function.

General conclusions

- 1). Natriuretic peptides are markers of heart failure severity and differential diagnosis in cardiac dyspnea.
- 2). N-terminal portions of cardiac peptides ANP and BNP are more stable in plasma than their C-terminal portions, due to a sensibly higher $\frac{1}{2}$ life time. Both are used in clinical practice in commercially available kits.
- 3). BNP level presents higher accuracy (than ANP) when compared with echocardiographically determined LVEF used in HF diagnostic.
- 4). Increased plasma levels of BNP cannot differentiate systolic from diastolic HF but can determine the presence of heart failure due to diastolic dysfunction with similar accuracy as that due to systolic dysfunction.
- 5). Our study revealed that plasma BNP levels indicate disease severity in patients with isolated DHF.
- 6). Functional status of patients with DHF is objectively established by effort testing.
- 7). In HF patients with diastolic dysfunction, LV longitudinal function is altered even when LVEF is preserved.
- 8). At rest levels of ANP and BNP were elevated in patients with diastolic dysfunction, but did not change significantly during effort testing.
- 9). HF diagnosis is established based not only on a laboratory test or echocardiograms but in a clinical context, using these markers to improve clinical judgment.
- 10). All approaches to evaluate the cardiac function, including new biomarkers and imaging methods or employment of different exercise tests, contribute to a more accurately assessment of patients with HF and a better understanding of the disease, allowing cardiologists to classify risks and apply appropriate therapy.

This thesis covered 199 recent bibliographic references.