



Determinanti di NT-proBNP in pazienti anziani non cardiopatici

Determinants of NT-proBNP in elderly non-cardiac patients

F. MORONI, M. PINELLI*, M. BINDI*, M. CASTIGLIONI*, F. PENTIMONE

Medicina Generale II, Azienda Ospedaliera-Universitaria Pisana, Pisa; * Medicina Generale IV, Azienda Ospedaliera-Universitaria Pisana, Pisa

Objectives. The aim of our study was to identify potentially confounding variables for the interpretation of plasma N-terminal pro brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in non-cardiac hospitalized patients aged ≥ 65 years.

Methods. Seventy consecutive non-cardiac patients underwent assessments of NT-proBNP, thyroid hormones and several haemato-chemical variables and cardiac and abdominal ultrasound examination. The correlation among NT-proBNP and the other variables was assessed by Pearson coefficient (R) and multiple regression analysis.

Results. The median value of NT-proBNP exceeds recommended cut-offs for the diagnosis of heart failure: 331 (101-547) pg/ml for subjects aged < 75 years and 746 (401-1973) pg/ml for subjects aged ≥ 75 years. In the final multivariable regression analysis NT-proBNP is positively related with age and reactive C protein (CRP) and inversely with free-triiodothyronine (FT3), heart rate, haematocrit and hepatic steatosis.

Conclusions. In elderly hospitalized patients the levels of NT-proBNP are increased independent of overt cardiovascular disease. In this study we identify several "confounders" involved in the interpretation of plasma NT-proBNP concentration, among which haematocrit, FT3 and CRP which should play an important role.

Key words: Elderly • NT-proBNP • Haematocrit • Triiodothyronine • C reactive protein

Introduzione

Il dosaggio dei peptidi natriuretici, in particolare di BNP e della sua porzione amino-terminale NT-proBNP, è diventato un valido strumento per la diagnosi di scompenso cardiaco nella pratica clinica^{1,2}. Tuttavia pochi studi hanno testato l'utilità di questi biomarcatori negli anziani³⁻⁶. Inoltre è stato osservato come diverse variabili sia cardiache che extracardiache⁶⁻¹¹ possano influenzare le concentrazioni plasmatiche inficiando la loro accuratezza diagnostica. Il "peso" di queste variabili appare particolarmente rilevante nei pazienti anziani in cui si vengono a sommare gli effetti del processo fisiologico di "invecchiamento del sistema cardiovascolare", le comorbilità e, non ultimo, lo stile di vita.

Scopo del nostro studio è stato quindi quello di verificare quali parametri clinici e di laboratorio potessero influenzare le concentrazioni plasmatiche di NT-proBNP in un gruppo di pazienti ospedalizzati di età ≥ 65 anni e non affetti da chiara patologia cardiovascolare, al fine di delineare i limiti che accompagnano il suo impiego in questo gruppo di pazienti e di fornire utili indicazioni su quali potrebbero essere le precauzioni da attuare per un suo corretto utilizzo.

Metodi

PAZIENTI

Di tutti i pazienti di età ≥ 65 anni ricoverati presso le Unità Operative di Medicina Generale II e di Medicina Generale IV dell'Ospedale "S. Chiara" di Pisa, dall'1 febbraio 2006 al 31 maggio 2006, sono stati inclusi nella nostra analisi solo coloro che soddisfacevano i seguenti criteri: assenza di scompenso cardiaco, cardiopatia ischemica, ipertensione arteriosa, diabete mellito; valori di frazione di eiezione $\geq 60\%$; valori pressori stabilmente inferiori a 140/90 mmHg; assenza di terapie in atto con farmaci agenti sul sistema cardiovascolare; normale elettrocardiogramma, definito come assenza di deviazione del tratto ST, onda Q, blocchi di branca, ipertrofia ventricolare sinistra, aritmie. In definitiva la nostra popolazione di studio consisteva di 70 soggetti.

MISURAZIONI

A ogni paziente sono state misurate la pressione arteriosa sistolica e diastolica (PAS e PAD) e la frequenza cardiaca (FC), ed è stato registrato un ECG a 12 derivazioni; inoltre è stato calcolato il body mass index (BMI kg/m^2). Un prelievo di sangue venoso, dopo almeno 12 ore di digiuno, è stato effettuato per la determinazione degli esami ematochimici secondo i metodi tradizionali e standardizzati del laboratorio di riferimento.

Il profilo ormonale tiroideo è stato determinato misurando la triiodotironina libera (FT3), la tiroxina libera (FT4) e l'ormone tireostimolante (TSH) mediante un saggio immunologico in chemoluminescenza (CMIA, Architect System, Abbot); gli intervalli di riferimento del nostro laboratorio erano: FT3 1,71-3,71 pg/ml , FT4 0,70-1,48 ng/dl , e TSH 0,35-4,94 $\mu\text{IU}/\text{ml}$.

L'escrezione urinaria d'albumina è stata calcolata come concentrazione urinaria d'albumina (UAC) su un campione *spot* di urine del primo mattino ed espressa in mg/l , mentre la velocità di filtrazione glomerulare (VFG) è stata calcolata secondo la versione abbreviata della *Modification Diet of Renal Disease formula*¹² e misurata in $\text{ml}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2$: $186 \times \text{Cr}^{-1,154} \times \text{age}^{0,208} \times (0,742, \text{ se femmina})$, dove Cr rappresenta la creatinemia.

NTproBNP è stato dosato mediante un saggio immunologico in elettrochemoluminescenza (ECLIA, proBNP Elecsys, Roche Diagnostics). Il saggio presenta un intervallo di misura tra 5 e 35.000 pg/ml . I valori diagnostici per lo scompenso sono $> 125 \text{ pg}/\text{ml}$ (età < 75 aa) e $> 450 \text{ pg}/\text{ml}$ (età ≥ 75 aa).

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad esame ecocardiografico per escludere una disfunzione sistolica e/o diastolica del ventricolo sinistro e ad ecografia dell'addome per stabilire la presenza di steatosi epatica, definita come un'epatopatia diffusa, con un aumento dell'ecogenicità del parenchima epatico ed attenuazione del fascio ultrasonoro in profondità.

ANALISI STATISTICA

I dati sono espressi come media \pm errore standard della media (SEM) per le variabili parametriche, come mediana (25°-75° percentile) per le variabili a distribuzione non gaussiana, come numero e percentuale del totale per quelle discrete. Le ulteriori analisi sono state effettuate dopo la trasformazione delle variabili non parametriche nei rispettivi logaritmi decimali. La forza e l'indipendenza delle correlazioni tra NT-proBNP e le altre variabili sono state valutate con il coefficiente R di Pearson e, successivamente, con un'analisi di regressione lineare multipla. Il modello finale di regressione è stato ristretto a quei parametri che mostravano una $P < 0,05$ nell'analisi univariata.

Risultati

Le caratteristiche di partenza dei soggetti studiati sono descritte nella Tabella I. È interessante notare come il valore mediano di NT-proBNP risulti al di sopra del *cut-off* diagnostico per scompenso cardiaco: considerando separatamente i soggetti di età < 75 anni e gli ultrasessantacinquenni si passa da un valore mediano di 331 (101-547) pg/ml ad uno di 746 (401-1973)

Tab. I. Caratteristiche di partenza dei settanta pazienti studiati.

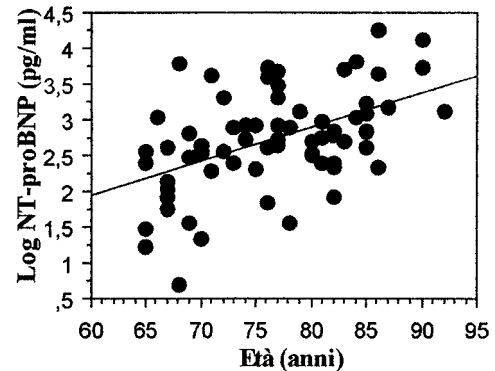
Sesso, maschi	37 (47%)
Età, anni	76 ± 1
PAS, mmHg	124 ± 1
PAD, mmHg	75 ± 1
FC, bpm	82 ± 1
BMI, kg/m ²	24 ± 1
HCT,%	34 ± 1
VFG, ml/min/1,73 m ²	81 ± 5
Acido urico, mg/dl	5,4 ± 0,2
FT3, pg/ml	1,81 ± 0,06
FT4, ng/dl	1,10 ± 0,04
TSH, µU/ml	1,97 ± 0,29
Colesterolo totale, mg/dl	156 ± 6
Colesterolo HDL, mg/dl	45 ± 3
Colesterolo LDL, mg/dl	94 ± 5
NT-proBNP, pg/ml	494 (240-1330)
PCR, mg/dl	1.66 (0,5-10)
UAC, mg/l	18 (4-53)
Epatosteatosi	20 (28%)

BMI = body mass index; FC = frequenza cardiaca; FT3 = triiodotironina libera; FT4 = tiroxina libera; HCT = ematocrito; HDL = high density lipoprotein; LDL = low density lipoprotein; NT-proBNP = N-Terminal pro Brain Natriuretic Peptide; PAD = pressione arteriosa diastolica; PAS = pressione arteriosa sistolica; PCR = proteina C reattiva; TSH = ormone tireostimolante; UAC = concentrazione urinaria di albumina; VFG = velocità di filtrazione glomerulare

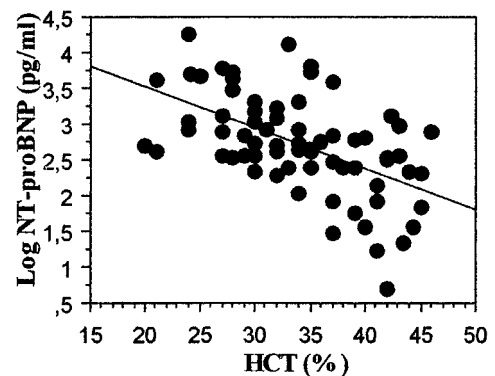
pg/ml. Inoltre, la percentuale di soggetti che presenta concentrazioni di neuropeptide al di sopra del *cut-off* diagnostico corrisponde al 70% (N = 49). Nell'analisi univariata Log-NT-proBNP correla direttamente con età (R = 0,49, p < 0,0001), acido urico (R = 0,29, p < 0,01) e Log-proteina C reattiva (PCR) (R = 0,47, p < 0,0001) e negativamente con PAS (R = -0,35, p < 0,01), PAD (R = -0,27, p < 0,05), FC (R = -0,33, p < 0,01), BMI (R = -0,24, p < 0,05), ematocrito (HCT) (R = -0,54, p < 0,0001), VFG (R = -0,25, p < 0,05), FT3 (R = -0,65, p < 0,0001), Log-UAC (R = -0,28, p < 0,01) ed epatosteatosi (R = -0,44, p < 0,0001). La Figura 1 mostra graficamente le correlazioni più significative. Infine, come evidenziato dalla Tabella II, nel modello finale di regressione multipla persistono le correlazioni dirette con età e PCR e quelle inverse con FT3, FC, HCT ed epatosteatosi.

Fig. 1. Correlazione di Log NT-proBNP con età (A), HCT (B), FT3 (C) e Log PCR (D).

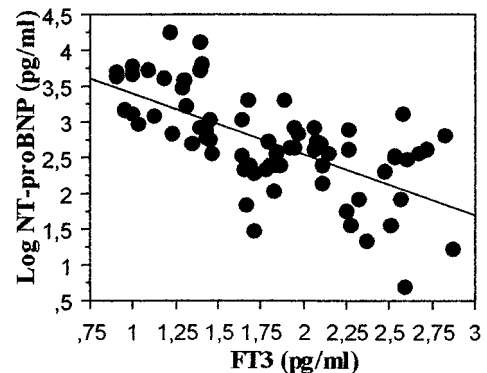
A)



B)



C)



Tab. II. Analisi di regressione lineare multipla con Log NT-proBNP come variabile dipendente.

Variabile	Coefficiente standardizzato di regressione	p
Età	0,213	0,024
PAS	0,028	NS
PAD	-0,162	NS
FC	-0,210	0,025
BMI	-0,041	NS
HCT	-0,401	0,008
VFG	0,123	NS
Acido urico	0,142	NS
Log PCR	0,195	0,029
Log UAC	0,029	NS
FT3	-0,280	0,007
Epatosteatosi	-0,234	0,006

BMI = body mass index; FC = frequenza cardiaca; FT3 = triiodotironina libera; HCT = ematocrito; Log NT-proBNP = logaritmo decimale di N-Terminal pro Brain Natriuretic Peptide; Log PCR = logaritmo decimale di proteina C reattiva; Log UAC = logaritmo decimale di concentrazione urinaria di albumina; NS = non significativo; PAD = pressione arteriosa diastolica; PAS = pressione arteriosa sistolica; VFG = velocità di filtrazione glomerulare.

Discussione

Nonostante la mole crescente di studi condotti sui peptidi natriuretici, quelli effettuati esclusivamente su NT-proBNP nel paziente anziano continuano ad essere in numero esiguo³⁻⁶.

Pertanto, nel presente studio, abbiamo voluto fotografare il comportamento di questo peptide in una popolazione di ultrasessantacinquenni ospedalizzati non cardiopatici, al fine di individuare eventuali determinanti che, aumentando o diminuendone la concentrazione plasmatica, ne potessero alterare l'accuratezza diagnostica ed inficiare la reale utilità clinica.

È stata selezionata una popolazione di anziani ospedalizzati, proprio per delineare il comportamento di NT-proBNP nei nostri malati, dal momento che la trasferibilità dei risultati dei trials e/o delle meta-analisi al singolo paziente è tanto minore quanto più rigidi sono i criteri di inclusione, con la conseguenza di esaminare individui particolarmente "puri", selezionati e tendenzialmente lontani dalla complessità clinica reale; questo è tanto più vero nell'età anziana, dove si accresce la distanza tra il paziente ideale e quello reale.

Alcuni dei nostri risultati confermano quelli di precedenti studi. Questo vale per la correlazione positiva tra NT-proBNP ed età. Tra le possibili spiegazioni di questo fenomeno sono state ipotizzate una riduzione dei recettori di *clearance* anche in assenza di una disfunzione emuntoria renale¹³, una minor efficacia della *clearance* mediata dalle piastrine¹⁴ e l'aumentata produzione del neuropeptide come testimoniano indagini condotte su alcune specie animali¹⁵. D'altronde, con l'avanzare dell'età si realizzano modificazioni fisiologiche dell'apparato cardiovascolare di per sé predisponenti ad una minor performance cardiaca e ad una maggiore vulnerabilità dell'individuo; in questa ottica, l'aumento di NT-proBNP potrebbe identificare quegli individui a maggior rischio di sviluppare patologie cardiovascolari e scompenso cardiaco.

In questa sede, è stata identificata una relazione inversa tra NT-proBNP e HCT; questo dato è in accordo con un precedente studio⁶. È stato ipotizzato che, in presenza di un basso valore di HCT, si crei un circolo ipercinetico, il quale attraverso un aumentato stress sulle pareti ventricolari, determinerebbe la secrezione del peptide. Questa osservazione potrebbe avere importanti implicazioni fisiopatologiche; l'HCT potrebbe rappresentare uno stimolo diretto alla produzione di BNP attraverso meccanismi e recettori attualmente non noti, nel contesto di un processo di omeostasi dipendente dal grado di emodiluizione⁶; la stimolazione di BNP avrebbe lo scopo di riportare i valori HCT entro la normalità, come suggerito dall'aumento di HCT osservato negli animali in cui era stato infuso BNP¹⁶. Peraltro non si può neanche escludere che una condizione di anemia, determinando un incremento dell'*output* cardiaco e una vasodilatazione periferica, possa indurre la secrezione di neuro-ormoni ad azione vasoconstrictrice che costituiscono uno stimolo diretto alla secrezione dei peptidi natriuretici¹⁷. Per chiarire l'associazione tra NT-proBNP e HCT potrebbe essere utile valutare gli effetti sulle concentrazioni del neuropeptide, di una trasfusione di emazie in acuto, e quello dell'eritropoietina in cronico.

Nel modello finale di regressione persiste la correlazione inversa tra NT-proBNP e FC. La nostra scoperta conferma quella di un precedente studio, condotto su una popolazione di soggetti non affetti da patologia cardiovascolare di età compresa tra 55-88 anni¹¹. Questa relazione potrebbe essere spiegata pensando che nei soggetti sani la sintesi e la secrezione dei

peptidi natriuretici dipendano dalla durata della diastole e/o dalla pressione di riempimento intraventricolare.

È stata inoltre dimostrata una relazione inversa tra NT-proBNP e presenza di epatosteatosi. Questa osservazione è in accordo con un precedente studio ⁶, in cui è stato ipotizzato che i soggetti con più bassi livelli di NT-proBNP presentino un accumulo di trigliceridi nel tessuto adiposo soprattutto in sede addominale, basandosi su precedenti osservazioni ¹⁸ che variazioni genetiche dei peptidi natriuretici potevano aumentare la suscettibilità allo sviluppo di un'adiposità prevalentemente addominale. Attualmente la steatosi è riconosciuta come un buon marker di obesità viscerale, più efficace dei parametri antropometrici come il BMI e la circonferenza vita. A sua volta l'obesità viscerale costituisce una condizione predisponente sia all'iperinsulinemia cronica, con conseguente accumulo di trigliceridi negli epatociti, sia all'insulinorresistenza, con rilascio di acidi grassi dagli adipociti. Queste tre condizioni sono elementi chiave della sindrome metabolica; come NT-proBNP possa entrare in gioco e possa contribuire alla patogenesi di tale sindrome è ancora poco chiaro e richiede ulteriori approfondimenti.

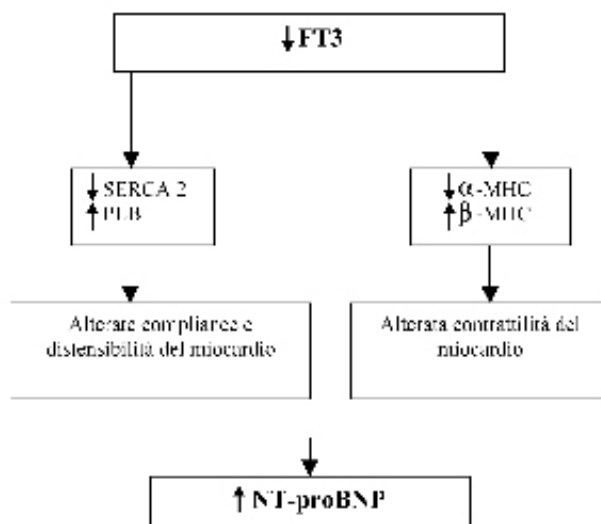
Più meritevoli di commento, a nostro avviso, sono le relazioni di NT-proBNP con FT3 e PCR.

Gli ormoni tiroidei esercitano molteplici effetti sull'apparato cardiovascolare, aumentando la contrattilità miocardica, diminuendo le resistenze vascolari sistemiche e coronariche, migliorando la *compliance* diastolica, incrementando lo *stroke volume* e l'*output* cardiaco. La riduzione di ciascuna di queste azioni potrebbe determinare un precoce e iniziale deterioramento delle funzioni miocardiche. È noto che gli ormoni tiroidei, ed in particolare la T3, modulano direttamente le funzioni cardiache regolando la trascrizione di alcuni geni codificanti enzimi e proteine fondamentali per i miociti come la Ca⁺⁺-ATPasi del reticolo sarcoplasmatico (SERCA 2), il suo inibitore fisiologico fosfolambano (PLB), la Na⁺/K⁺-ATPasi e le catene pesanti α e β della miosina (α -MHC e β -MHC) ^{19 20}.

Alcuni di questi geni sono regolati positivamente (SERCA 2 e α -MHC) ed altri negativamente (PLB e β -MHC). Ne consegue che una riduzione di FT3 comporti un aumento dell'attività di PLB e dei livelli di β -MHC con alterazioni sia della distensibilità che della contrattilità miocardiche.

I pazienti anziani presentano frequentemente un deragliamento del metabolismo tiroideo che

Fig. 2. Possibile legame fisiopatologico tra ridotti livelli di FT3 ed incremento delle concentrazioni plasmatiche di NT.

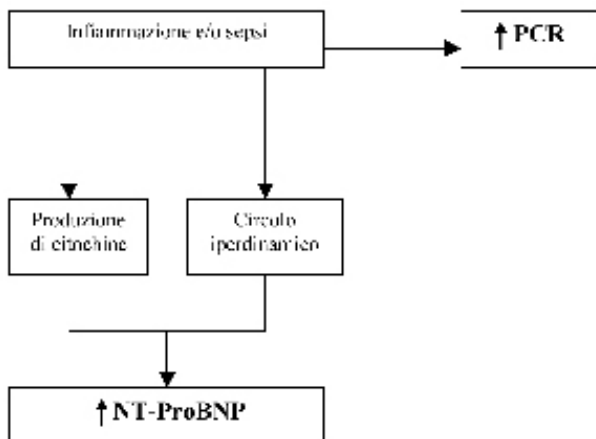


α -MHC = catena pesante alfa della miosina; β -MHC = catena pesante beta della miosina; FT3 = triiodotironina libera; NT-proBNP = *N-Terminal pro Brain Natriuretic Peptide*; PLB = fosfolambano; SERCA = Ca⁺⁺ ATPasi del reticolo sarcoplasmatico.

va sotto il nome di sindrome da bassa T3 ed interessa tra il 40% e il 70% dei pazienti ospedalizzati. Essa si caratterizza per ridotte concentrazioni circolanti di T3 e aumentate concentrazioni di *reverse T3*, ed è dovuta principalmente ad una ridotta attività dell'enzima 5^l deiodasi nei tessuti periferici; TSH e T4 sono di solito normali ma possono diminuire con il peggioramento della patologia sottostante.

Questa sindrome è stata descritta in corso di varie malattie sistemiche ¹⁹ ed in corso di scompenso cardiaco sembra avere un significato prognostico sfavorevole ^{21 22}. Recentemente abbiamo osservato come soggetti con sindrome da bassa T3 e non affetti da conclamata patologia cardiovascolare, presentassero livelli di NT-proBNP significativamente più alti rispetto a soggetti con normale FT3 ²³. Da quanto detto appare plausibile che una precoce e asintomatica alterazione sia della contrattilità che della *compliance* del miocardio, dovute alla modificazione dell'espressione genica di proteine fondamentali per il miocita, possa rappresentare il legame fisiopatologico tra ridotti livelli di FT3 ed aumentate concentrazioni di NT-proBNP (Fig. 2). Pertanto il dosaggio degli ormoni tiroidei e del neuropeptide potrebbe essere utile nello *screening* di una popolazione di anziani

Fig. 3. Possibile legame fisiopatologico tra livelli aumentati di PCR ed incremento delle concentrazioni plasmatiche di NT-proBNP.



NT-proBNP = *N-Terminal pro Brain Natriuretic Peptide*; PCR = proteina C reattiva

apparentemente sani, identificando quei soggetti a rischio di sviluppare una cardiopatia o uno scompenso cardiaco e che potrebbero giovare di una terapia profilattica a lungo termine con T3.

Un altro dato interessante è l'associazione tra NT-proBNP e PCR. Si potrebbe ipotizzare che un qualsiasi processo flogistico possa aumentare le concentrazioni del neuropeptide; del resto le cause che predispongono allo sviluppo di patologie infettive nell'anziano sono molteplici: dalle alterazioni del sistema immunitario, a precedenti trattamenti chemioterapici, dall'insorgenza di resistenze batteriche, all'allettamento, dall'uso di immunosoppressori a procedure interventistiche (cateterismi o indagini diagnostiche invasive).

Uno stato di flogosi (acuta o cronica) o lo sviluppo di una sepsi potrebbero favorire la produzione di citochine, in grado di indurre la trascrizione a livello dei cardiomiociti del gene del BNP. Non è da escludere anche l'ipotesi che un qualsiasi processo infiammatorio/flogistico mediante il rilascio di citochine cardiotossiche (TNF-alfa, IL1) possa generare una disfunzione

miocardica latente, che si esprimerebbe mediante aumentate concentrazioni plasmatiche del peptide. Inoltre un qualsiasi processo flogistico, generando una risposta febbrile, potrebbe indurre un circolo iperdinamico/ipercinetico che, come già detto in precedenza, potrebbe favorire un incremento di NT-proBNP nel plasma (Fig. 3). Al di là delle possibili spiegazioni di questa relazione è comunque interessante notare come sia PCR che NT-proBNP negli ultimi anni siano emersi come predittori di eventi cardiovascolari²⁴⁻²⁶. Di conseguenza la possibilità che NT-proBNP possa costituire un valido predittore di rischio cardiovascolare, e addirittura più efficace rispetto ad altri, nei soggetti anziani sani è affascinante e apre la strada a nuovi utilizzi di questo biomarcatore.

Conclusioni

I nostri dati evidenziano come i livelli di NT-proBNP nei pazienti anziani ospedalizzati siano elevati indipendentemente da una conclamata patologia cardiovascolare sottostante. In questo studio, abbiamo identificato diversi fattori "confondenti" implicati nella determinazione di NT-proBNP. Tra questi bassi valori di HCT e FT3 e aumentati livelli di PCR potrebbero avere un ruolo di primo piano dal momento che i pazienti anziani presentano spesso anemia e patologie che si associano sia ad una sindrome da bassa T3 che ad elevati valori di PCR. Pertanto, al fine di una corretta interpretazione dei risultati, appaiono opportuni degli aggiustamenti dei valori soglia di NT-proBNP diagnostici per scompenso cardiaco che tengano conto degli effetti e del peso che l'invecchiamento e queste altre variabili esercitano, in maniera più o meno evidente, sulle concentrazioni plasmatiche del neuropeptide. In conclusione, alla luce dei risultati del nostro studio, risulta chiaro che nell'anziano più che mai, data la sua complessità, si impone la necessità di fuggire dalla sterile interpretazione di un test di laboratorio per formulare una diagnosi, mentre appare necessaria ed imprescindibile un'accurata valutazione dei sintomi e segni clinici.

Obiettivi. Scopo dello studio è stato quello di identificare quali variabili potessero influenzare le concentrazioni plasmatiche di *N-terminal pro brain natriuretic peptide* (NT-proBNP) in pa-

zienti ospedalizzati di età ≥ 65 anni, non affetti da chiara patologia cardiovascolare.

Metodi. Settanta pazienti non cardiopatici han-

no eseguito il dosaggio di NT-proBNP, ormoni tiroidei ed altri esami ematochimici e sono stati sottoposti ad esame ecografico cardiaco ed addominale. La correlazione tra NT-proBNP e le altre variabili è stata determinata mediante coefficiente R di Pearson ed analisi di regressione lineare multipla.

Risultati. Nei malati studiati il valore mediano di NT-proBNP risulta al di sopra del *cut-off* diagnostico per scompenso cardiaco: 331 (101-547) pg/ml per i soggetti di età < 75 anni e 746 (401-1973) pg/ml per gli ultrasessantacinquenni. Nel modello finale di regressione il neuropeptide correla direttamente con età e proteina C reattiva

(PCR) ed inversamente con triiodotironina libera (FT3), frequenza cardiaca, ematocrito (HCT) ed epatosteatosi.

Conclusioni. In pazienti anziani ospedalizzati i livelli di NT-proBNP risultano elevati indipendentemente da una conclamata patologia cardiovascolare sottostante. Nello studio sono stati identificati diversi fattori "confondenti" implicati nella determinazione di NT-proBNP, tra cui HCT, FT3 e PCR che potrebbero avere un ruolo importante.

Parole chiave: Anziani • NT-proBNP • Ematocrito • Triiodotironina • Proteina C reattiva

BIBLIOGRAFIA

- Wright SP, Dugthy RN, Pearl A, Gamble GD, Whalley GA, Walsh HJ, et al. *Plasma amino-terminal pro-brain natriuretic peptide and accuracy of heart failure diagnosis in primary care. A randomized, controlled trial.* J Am Coll Cardiol 2003;42:1793-800.
- 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;42:728-35.
- Berdagué P, Caffin PY, Barazer I, Vergnes C, Sedighian S, Letrillard S, et al. *Use of N-terminal prohormone brain natriuretic peptide assay for etiologic diagnosis of acute dyspnea in elderly patients.* Am Heart J 2006;151:690-8.
- Valle R, Aspromonte N, Barro S, Canali C, Carbonieri E, Ceci V, et al. *The NT-pro BNP assay identifies very elderly nursing home residents suffering from pre-clinical heart failure.* Eur J Heart Fail 2005;7:542-51.
- Wallen T, Landahl S, Hedner T, Nakao K, Saito Y. *Brain natriuretic peptide predicts mortality in the elderly.* Heart 1997;77:264-7.
- Muscari A, Berzigotti A, Bianchi G, Giannoni C, Ligabue A, Magalotti D, et al. *Non-cardiac determinants of NT-proBNP levels in the elderly: Relevance of haematocrit and hepatic steatosis.* Eur J Heart Fail 2006;5:468-76.
- Raymond I, Groenning BA, Hildebrandt PR, Nilsson JC, Baumann M, Trawinski J, et al. *The influence of age, sex and other variables on the plasma level of N-terminal pro brain natriuretic peptide in a large sample of the general population.* Heart 2003;89:745-51.
- Krauser DG, Lloyd-Jones DM, Chae CU, Cameron R, Anwaruddin S, Baggish AL, et al. *Effect of body mass index on natriuretic peptide levels in patients with acute congestive heart failure: a proBNP investigation of dyspnoea in the emergency department (PRIDE) substudy.* Am Heart J 2005;149:744-50.
- Willis MS, Lee ES, Grenache DG. *Effect of anemia on plasma concentrations of NT-proBNP.* Clin Chim Acta 2005;358:175-81.
- Vickery S, Price CP, John RI, Abbas NA, Webb MC, Kempson ME, 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;46:610-20.
- Loke I, Squire IB, Davies JE, Leong L. *References ranges for natriuretic peptides for diagnostic use are dependent on age, gender and heart rate.* Eur J Heart Fail 2003;5:599-606.
- National Kidney Foundation. *K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification.* Am J Kidney Dis 2002;39: S1-S266.
- Clark BA, Elahi D, Shannon RP, Wei JY, Epstein FH. *Influence of age and dose on the end-organ responses to atrial natriuretic peptide in humans.* Am J Hypertens 1991;4:500-7.
- Giannessi D, Andreassi MG, Del Ry S, Clerico A, Colombo MG, Dini N. *Possibility of age regulation of the natriuretic peptide C-receptor in human platelets.* J Endocrinol Invest 2001;24:H1684-9.
- Raizada V, Thakore K, Luo W, McGuire PG. *Cardiac chamber-specific alterations of ANP and BNP expression with advancing age and with systemic hypertension.* Mol Cell Biochem 2001;16:137-40.
- Woods RL, Jones MJ. *Atrial, B-type, and C-type natriuretic peptides cause mesenteric vasoconstriction in conscious dogs.* Am J Physiol 1999;276:R1443-52.
- Ruskoaho H. *Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure.* Endocr Rev 2003;24:341-56.
- Sarzano R, Strazzullo P, Salvi F, Iacone R, Pietrucci F, Siani A, et al. *Natriuretic peptide clearance receptor alleles and susceptibility to abdominal adiposity.* Obes Res 2004;12:351-6.
- Klein I, Ojamaa K. *Thyroid hormone and the cardiovascular system.* N Engl J Med 2001;344:501-9.
- Danzi S, Ojamaa K, Klein I. *Triiodothyronine-mediated myosin heavy chain gene transcription in the heart.* Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003;284:H2255-62.
- Iervasi G, Pingitore A, Landi P, Raciti M, Ripoli A, Scarlattini M, et al. *Low-T3 syndrome: a strong prognostic predictor of death in patients with heart disease.* Circulation 2003;107:708-13.
- Pingitore A, Landi P, Taddei MC, Ripoli A, L'Abbate

- A, Iervasi G. *Triiodothyronine levels for risk stratification of patients with chronic heart failure*. *Am J Med* 2005;118:132-6.
- ²³ Pinelli M, Bindi M, Cassetti G, Moroni F, Pandolfo C, Rosada J, et al. *Relationship between low T3 syndrome and NT-proBNP levels in non-cardiac patients*. *Acta Cardiol* 2007;62:19-24.
- ²⁴ Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM, Ives DG, Evans RW, Cushman M, et al. *Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly. Results from the Cardiovascular health Study and the Rural Health Promotion Project*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1121-7.
- ²⁵ Strandberg TE, Tilvis RS. *C-reactive protein, cardiovascular risk factors and mortality in a prospective study in the elderly*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1057-60.
- ²⁶ Blankenberg S, McQueen MJ, Smieja M, Pogue J, Balion C, Lonn E, et al. *Comparative impact of multiple biomarkers and N-terminal ProBrain Natriuretic peptide in the context of conventional risk factors for prediction of recurrent cardiovascular events in the heart Outcomes Prevention evaluation (HOPE) study*. *Circulation* 2006;114:201-8.