Klinika Niewydolności Serca i Transplantologii
Narodowy Instytut Kardiologii Stefana kardynała Wyszyńskiego
Państwowy Instytut Badawczy

Paula Połaska

ANALIZA ZWIĄZKU WYBRANYCH MARKERÓW KRZEPNIĘCIA I FUNKCJI ŚRÓDBŁONKA Z NIEWYDOLNOŚCIĄ NEREK W GRUPIE CHORYCH Z NIEWYDOLNOŚCIĄ SERCA

ROZPRAWA NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH

Promotor:
dr hab. n. med. Tomasz Rywik

Promotor pomocniczy:
dr n. med. Anna Drohomirecka

Rozprawa powstała na podstawie danych pochodzących z pracy statutowej nr 2.65/VII/16 realizowanej w Narodowym Instytucie Kardiologii

WARSZAWA 2023

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania mojemu Promotorowi

Panu dr. hab. n. med. Tomaszowi Rywikowi za wsparcie

merytoryczne, pomoc na każdym etapie realizacji projektu

oraz niewyczerpane pokłady cierpliwości.

Dziękuję Promotorowi Pomocniczemu

dr n. med. Annie Drohomireckiej za cenne wskazówki.

Szczególnie dziękuję Pani dr n. techn. Ilonie Kowalik

za pomoc w analizie statystycznej.

Kierownikom Kliniki Niewydolności Serca i Transplantologii

Panu prof. Tomaszowi Zielińskiemu,

Panu prof. Przemysławowi Leszkowi za motywację.

Koleżankom i Kolegom z Kliniki Niewydolności Serca

i Transplantologii za codzienne powody do uśmiechu.

Rodzicom, za ciepło i wsparcie.

Słowa kluczowe: niewydolność serca, niewydolność nerek, biomarkery zakrzepowe, dysfunkcja śródbłonka, czynniki predykcyjne, czynniki ryzyka niewydolności nerek

Keywords: heart failure, renal failure, thrombotic biomarkers, endothelial dysfunction, predictive factors, risk factors for renal function

Spis treści

SŁOWA KLUCZOWE **3**

WYKAZ SKRÓTÓW: **6**

1. WSTĘP **9**

1.1 Patofizjologia niewydolności serca 9
1.2 Chorobowość i koszty 11
1.3 Śmiertelność 12
1.4 Choroby współistniejące a rokowanie 12
1.5 Zespół sercowo-nerkowy, patofizjologia 13
1.6 Śródbłonek i jego funkcja 16
1.6.1 Metody oceny funkcji śródbłonka i biomarkerów zakrzepowych 18
1.7 Uszkodzenie śródbłonka w populacji pacjentów z niewydolnością serca 24
1.8 Związek uszkodzonego śródbłonka w HF i podłoże patogenetyczne powstającego zespołu sercowo-nerkowego typu 2 26

2. CELE PRACY: **29**

3. HIPOTEZA BADAWCZA: **29**

4. MATERIAŁ I METODY: **30**

4.1 Populacja badana 30
4.1.1 Kryteria włączenia i wykluczenia z badania 30
4.2 Metodyka 31
4.2.1 Badanie echokardiograficzne 31
4.2.2 Ocena funkcji śródbłonka metodami fizycznymi 32
4.2.3. Ultrasonograficzna ocena reaktywności tętnicy ramiennej w odpowiedzi na zmianę przepływu – flow mediated dilatation [FMD] 32
4.2.4 Analiza fali tętna [PWA] 35
4.2.5 Badania laboratoryjne 37
4.2.6 Biomarkery zakrzepowe i funkcji śródbłonka 37
4.3 Analizy statystyczne 39

5. WYNIKI: **41**

5.1 Charakterystyka badanych grup 41
5.1.1 Choroby współistniejące 41
5.1.2 Farmakoterapia badanej populacji 42
5.1.3 Badania laboratoryjne 42
5.1.4 Badanie echokardiograficzne i reaktywność naczyń 45
5.1.5 Biomarkery zakrzepowe 47
5.2 Charakterystyka grupy chorych w zależności od etiologii HF 48
5.2.1 Ogólna charakterystyka, badania laboratoryjne oraz parametry echokardiograficzne i reaktywność naczyń 48
5.2.2 Biomarkery zakrzepowe w zależności od etiologii HF 52
5.3 Analiza korelacji biomarkerów zakrzepowych w grupie badanej 52
5.3.1 Charakterystyka grupy i zmienne hemodynamiczne 53
5.3.2 Badania laboratoryjne 56
5.3.3 Badanie echokardiograficzne 58
5.4 Modele regresji liniowej wielu zmiennych 60
5.4.1 Analiza regresji liniowej oceniającej zależność statystyczną pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi, a zmiennymi demograficznymi i hemodynamicznymi 60
5.4.2 Analiza regresji liniowej oceniającej związek pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi a badaniami laboratoryjnymi (Tabela 15) 61
5.4.3 Analiza regresji liniowej oceniającej związek pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi a parametrami echokardiograficznymi 63
5.5 Analiza regresji liniowej wielu zmiennych uwzględniająca wszystkie analizowane parametry 65

5.6 Analiza związku badanych parametrów z funkcją nerek (Tabela 18) 67
5.6.1 Korelacja czynników podzielonych na kategorie z eGFR 70
5.6.2 Analiza modelu regresji liniowej czynników predykcyjnych eGFR 72
5.6.3 Czynniki predykcyjne nieprawidłowej czynności nerek (eGFR <60ml/min/1,73m2) 74

6. DYSKUSJA: 76

6.1 Charakterystyka populacji 76
6.1.1 Dane demograficzne 76
6.1.2 Wyniki badań laboratoryjnych 77
6.1.3 Reaktywność naczyń 78
6.1.4 Echokardiografia 80
6.2 Biomarkery zakrzepowe i dysfunkcji śródbłonka 81
6.3 Porównanie grupy badanej w zależności od etiologii HF 83
6.4 Czynniki predykcyjne biomarkerów zakrzepowych 86
6.4.1 Analiza parametrów hemodynamicznych, reaktywności naczyniowej oraz danych demograficznych 86
6.4.2 Analiza parametrów laboratoryjnych 88
6.4.3 Analiza parametrów echokardiograficznych 89
6.5 Wpływ na funkcję nerek 90
6.6 Aspekt kliniczny stwierdzanych zaburzeń w obrębie biomarkerów zakrzepowych w populacji chorych z HF 95

7. OGRANICZENIA BADANIA: 99

8. WNIOSKI: 100

9. STRESZCZENIE 101

10. SUMMARY 110

11. SPIS TABEL 119

12. SPIS RYCIN 120

13. BIBLIOGRAFIA: 121

Wykaz skrótów:

ADMA – ang. asymmetric dimethyloarginine – asymetryczna dimetyloarginina

BMI – ang. body mass index – wskaźnik masy ciała

CET – ang. cardiac ejection time – czas wyrzutu krwi z lewej komory

CO – ang. cardiac output – rzut minutowy sera

CRS – ang. cardio-renal syndrome – zespół sercowo-nerkowy

DBP – ang. diastolic blood pressure – rozkurczowe ciśnienie tętnicze

EDTA – ang. ethylenediaminetetraacetic acid – kwas wersenowy

EDRF – ang. endothelium-derived relaxing factor – podstawowy czynnik naczyniorozszerzający (tlenek azotu)

EF – ang. ejection fraction – frakcja wyrzutowa

eGFR – ang. estimated glomerular filtration rate – szacunkowy wskaźnik filtracji kłębuszkowej

eNOS – ang. nitrous oxide synthase – syntaza tlenku azotu

ESC – ang. European Society of Cardiology – Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne

FAC – ang. fractional area change – zmiana pola powierzchni prawej komory

F1 + F2 – ang. prothrombin fragments F1 + F2 – odszczepione fragmenty 1 i 2 protrombiny

FMD – ang. flow mediated dilatation – ultrasonograficzna ocena reaktywności tętnicy ramiennej w odpowiedzi na zmianę przepływu (przekrwienie bierne)

Hct – ang. hematocrite – hematokryt

HF – ang. heart failure – niewydolność serca

HFmEF – ang. heart failure with mildly reduced ejection fraction – niewydolność serca z łagodnie obniżoną frakcją wyrzutową (EF 41-49%)

HFpEF – ang. heart failure with preserved ejection fraction – niewydolność serca z zachowaną frakcją wyrzutową (EF≥50%)

HFrEF – ang. heart failure with reduced ejection fraction – niewydolność serca z obniżoną frakcją wyrzutową (EF ≤40%)

HR – ang. heart rate – częstość rytmu serca

INR – ang. International Normalised Ratio – Międzynarodowy Współczynnik Znormalizowany

LAEI – ang. large artery elasticity index – indeks elastyczności dużych naczyń

LVEDD – ang. left ventricular end-diastolic diameter – wymiar końcoworozkurczowy lewej komory

LVEF – ang. left ventricular ejection fraction – frakcja wyrzutowa lewej komory

LV S' – ang. mitral annular systolic velocity – prędkość skurczowa pierścienia mitralnego (uśredniona wartość dla przegrody i ściany bocznej)

NO – ang. nitric oxide – tlenek azotu

NOAC – ang. non-vitamin K antagonist oral anticoagulant – doustne antykoagulanty niebędące antagonistą witaminy K

PAI-1 – ang. plasminogen activator inhibitor – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1

PWA – ang. pulse wave analysis – analiza fali tętna

RDW-CV – ang. red blood cell distribution width, coefficient of variation – rozpiętość rozkładu wielkości erytrocytów

RDW-SD – ang. red blood cell distribution width, standard deviation – współczynnik zmienności rozkładu objętości erytrocytów

RVIT – ang. right ventricle inflow tract – końcoworozkurczowy wymiar drogi napływu prawej komory

SAEI – ang. small artery elasticity index – indeks elastyczności małych naczyń

SBP – ang. systolic blood pressure – skurczowe ciśnienie tętnicze

sTM – ang. soluble thrombomodulin – rozpuszczalna trombomodulina

SV – ang. stroke volume – objętość wyrzutowa

TAPSE – ang. tricuspid annular plane systolic excursion – wychylenie skurczowe pierścienia trójdzielnego

TAT – ang. thrombin-antithrombin complex – kompleksy trombina-antytrombina

tPA – ang. tissue plasminogen activator – tkankowy aktywator plazminogenu

TV S' – ang. tricuspid annular systolic velocity – prędkość skurczowa pierścienia trójdzielnego

VTI LVOT – ang. subvalvular velocity time integral – całka prędkości przepływu w drodze odpływu lewej komory w czasie

WBC – ang. white blood cell – liczba leukocytów

vWF – ang. von Willenbrand factor - czynnik von Willenbranda

1. Wstęp

1.1 Patofizjologia niewydolności serca

Niewydolność serca [HF] jest złożonym zespołem objawów klinicznych wynikających ze strukturalnej i/lub czynnościowej dysfunkcji mięśnia sercowego. Zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego [ESC] (1) dotyczącymi diagnostyki i leczenia HF 2021, wyróżniamy 3 główne fenotypy w zależności od stopnia upośledzenia frakcji wyrzutowej lewej komory:

1) HF z obniżoną frakcją wyrzutową [HFrEF] (EF ≤40%),
2) HF z łagodnie obniżoną frakcją wyrzutową [HFmEF] (EF 41-49%),
3) HF z zachowaną frakcją wyrzutową [HFpEF] (EF≥50%).

Przedmiotem rozprawy jest populacja pacjentów z HF z istotnie obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory HFrEF.

Rozpoznanie HFrEF wymaga stwierdzenia objawów podmiotowych i/lub przedmiotowych (takich jak m.in.: duszność, zmniejszona tolerancja wysiłku, męczliwość, obrzęki w okolicy kostek, zwiększone ciśnienie w żyłach szyjnych, trzeci ton serca, przesunięcie uderzenia koniuszkowego w bok, powiększenie sylwetki serca w RTG klatki piersiowej) oraz obniżonej frakcji wyrzutowej LVEF ≤40% ocenianej najczęściej w badaniu echokardiograficznym.

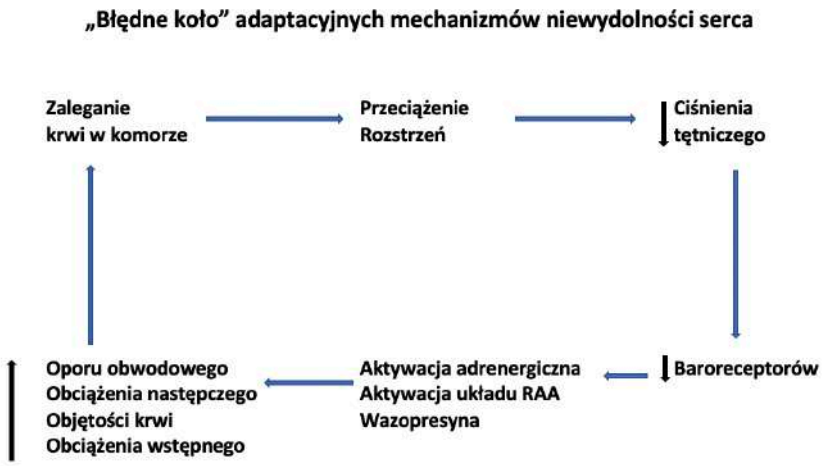
Podstawowym mechanizmem uruchamiającym kaskadę niekorzystnych zjawisk w przebiegu HF jest uszkodzenie mięśnia sercowego. Najczęstszymi przyczynami jego uszkodzenia pozostają: przewlekłe zespoły wieńcowe i nadciśnienie tętnicze (do 50-70% przypadków) (2). Szacuje się, że nabyte wady zastawkowe odpowiadają za 10% przypadków HF, a za kolejne 10 - 25% są odpowiedzialne kardiomiopatie (2, 3).

W przypadku wystąpienia zaburzeń kurczliwości mięśnia sercowego lub jego nadmiernego obciążenia hemodynamicznego początkowo dochodzi do krótkotrwałych mechanizmów adaptacyjnych pozwalających utrzymać rzut serca na stałym poziomie. Do najważniejszych z nich należą:

1) mechanizm Franka-Starlinga,
2) aktywacja układów neurohormonalnych, uwalnianie norepinefryny przez adrenergiczne włókna sercowe zwiększające kurczliwość miokardium,
3) aktywacja układu renina-angiotensyna-aldosteron, która utrzymuje na właściwym poziomie perfuzję narządów i reguluje ciśnienie tętnicze,
4) przebudowa (remodeling)/przerost mięśnia sercowego.

Jednakże mechanizmy adaptacyjne mają ograniczoną zdolność do podtrzymywania homeostazy krążenia. Gdy ich działanie jest długotrwałe, dochodzi do wystąpienia błędnego koła patofizjologicznego i pojawienia się objawów HF z jej pełnymi konsekwencjami(4).

Rycina 1. „Błędne koło” adaptacyjnych mechanizmów niewydolności serca



Zmodyfikowano na podstawie: Nessler J. Gackowski A. „Przewlekła niewydolność serca kompendium” 2016 Via Medica, Gdańsk (5).

1.2 Chorobowość i koszty

HF ma charakter przewlekły i postępujący. Częstość występowania szacuje się nawet do 3-4% w populacji ogólnej, a wśród osób powyżej 65 roku życia wzrasta ona znacząco, osiągając poziom 20% tej grupy wiekowej. Na HF choruje 20 milionów osób na całym świecie, w Polsce około 1 200 000 (6-8).

HF jest najczęstszą przyczyną hospitalizacji pośród pacjentów po 65 r. ż. (9). Jednocześnie to właśnie hospitalizacje stanowią ponad 90% wydatków związanych z leczeniem HF. W 2019 r. koszty leczenia HF wyniosły 1,7mld PLN (10), przy czym obserwuje się ich stały wzrost. Zapobieganie hospitalizacjom w przebiegu HF stanowi obecnie największe wyzwanie zespołów zajmujących się chorymi z HF.

1.3 Śmiertelność

HF nie tylko znacząco wpływa na jakość życia, ma również ogromny wpływ na codzienne funkcjonowanie chorych, a także dramatycznie pogarsza ich rokowanie. Pomimo nowych terapii, chorobowość i śmiertelność pozostają na bardzo wysokim poziomie ze wskaźnikiem śmiertelności rocznej sięgającym 10% (11). Co więcej, pacjenci ze schyłkową ciężką HF, wykazują roczną śmiertelność na poziomie niemal 50% (12). Ponad 40% pacjentów z HF nie przeżywa 5 lat od momentu rozpoznania choroby – co stanowi porównywalny wskaźnik dla większości nowotworów (13, 14). Należy podkreślić, że HF stanowi najczęstszą przyczynę zgonów w polskiej populacji (15).

Rokowanie w HF zależy m.in. od liczby i częstości hospitalizacji z powodu dekompensacji układu krążenia. Częste zaostrzenia objawów HF spowodowane zwiększonym zastojem i przeciążeniem objętościowym prowadzą do dysfunkcji wątroby i nerek, oraz istotnie pogarszają rokowanie. Hospitalizacje pacjentów z powodu HF cechuje wysoki wskaźnik śmiertelności, szczególnie w okresie po wypisaniu chorego do domu (16, 17). W analizie programu CHARM całkowita śmiertelność po 38 miesiącach obserwacji po wypisie rosła niemal trzykrotnie w stosunku do pacjentów z HF, którzy nigdy nie byli hospitalizowani, z jeszcze większym wzrostem u pacjentów rehospitalizowanych oraz u tych dłużej hospitalizowanych (17).

1.4 Choroby współistniejące a rokowanie

Choroby współistniejące często komplikują przebieg HF i są uznanymi czynnikami pogarszającymi rokowanie (18-20). Obecność chorób współistniejących utrudnia prowadzenie chorych z HF i wymaga podejmowania zindywidualizowanych decyzji terapeutycznych. Manemann i współpracownicy wykazali, że nawet jedna, inna niż

sercowo-naczyniowa choroba współistniejąca w większym stopniu pogarsza rokowanie niż choroby sercowo-naczyniowe (21). Szacuje się, że większość chorych z HF ma co najmniej jedną, inną niż sercowo-naczyniową chorobę współistniejącą (19, 22).

W dotychczas opublikowanych metaanalizach jedną z najczęściej wikłających przebieg HF chorób jest niewydolność nerek z częstością występowania 49% (18) (23). Niewydolność nerek w istotnym stopniu wpływa na wzrost śmiertelności – wykazano 50% wzrost ryzyka zgonu w przypadku współwystępowania tej patologii z HF, w porównaniu do chorych z HF, ale bez dysfunkcji nerek (18, 19). Co więcej – śmiertelność wzrasta wraz ze stopniem zaawansowania niewydolności nerek, a szacowany wzrost śmiertelności w grupie chorych z ciężką dysfunkcją nerek w stosunku do grupy z tylko umiarkowanym ich uszkodzeniem wynosi 80% (18).

HF i niewydolność nerek wzajemnie wpływają na siebie. Częste dekompensacje HF prowadzą do niewydolności wielonarządowej, w tym do progresji niewydolności nerek, co istotnie pogarsza rokowanie pacjenta. W metaanalizie Dammana wykazano istotny wzrost śmiertelności (HR 1.95) w populacji z HF, pośród pacjentów z postępującym upośledzeniem funkcji nerek (24). Jednak nie tylko zaostrzenia HF prowadzą do stopniowego pogarszania się funkcji nerek. Także pozornie stabilna choroba prowadzi do stopniowego uszkadzania kłębuszków nerkowych i obniżonej filtracji (25).

1.5 Zespół sercowo-nerkowy, patofizjologia

Za homeostazę wodno-elektrolitową organizmu odpowiadają w głównej mierze serce i nerki. Interakcja między układem sercowo-naczyniowym a nerkami budzi zainteresowanie badaczy już od ponad pół wieku. Niemniej jednak definicja zespołu

sercowo-nerkowego pojawiła się dopiero około 2004 roku, a w 2008 roku Ronco wraz ze współpracownikami podzielił zespół sercowo-nerkowy na 5 typów różniących się patofizjologią (26):

1) ostry zespół sercowo-nerkowy (CRS typ 1),
2) przewlekły zespół sercowo-nerkowy (CRS typ 2),
3) ostry zespół nerkowo-sercowy (CRS typ 3),
4) przewlekły zespół nerkowo-sercowy (CRS typ 4),
5) wtórny zespół nerkowo-sercowy (CRS typ 5).

Przedmiotem niniejszej rozprawy jest przewlekły zespół sercowo-nerkowy typu 2 – opisuje on bowiem konsekwencje przewlekłej HF i jej wpływ na funkcję nerek. Zespół sercowo-nerkowy występuje u około 50% pacjentów z HF, w porównaniu do populacji ogólnej, w której obniżony eGFR <60ml/min/1,73m^2 występuje z częstością 4.5/100 pacjentów (24).

Obecnie postuluje się wiele mechanizmów, które są odpowiedzialne za pogorszenie funkcji nerek w populacji chorych z HF. Niemniej jednak, nie są znane wszystkie mechanizmy patofizjologiczne. Nadal poszukuje się czynników, których modyfikacja mogłaby hamować postęp niewydolności nerek, a tym samym istotnie poprawiać rokowanie w tej grupie chorych.

W początkowej fazie HF spadek rzutu serca jest bardzo dobrze kompensowany przez mikrokrążenie nerkowe dzięki mechanizmom autoregulacji, za które w dużej mierze odpowiada prawidłowo funkcjonujący śródbłonek. W dalszym etapie dochodzi do zwiększonej aktywności neurohormonalnej, m.in. aktywacji osi układu renina-angiotensyna-aldosteron, wzrostu wydzielania wazopresyny oraz aktywacji adrenergicznej, co negatywnie wpływa na stopień filtracji kłębuszkowej (27). Dalsze

powiększanie się wymiaru końcoworozkurczowego lewej komory oraz progresja HF prowadząca do coraz większej redukcji rzutu minutowego, doprowadza do załamania autoregulacji i zmniejszenia filtracji kłębuszków nerkowych. Niemniej jednak wykazano, że mechanizmem równie ważnym, co spadek perfuzji tętniczej jest upośledzenie odpływu żylnego, skutkujące przekrwieniem biernym (28). Z uwagi na to, że nerki otoczone są torebką, w wyniku przekrwienia bardzo szybko dochodzi do narastania ciśnienia wewnątrznerkowego i zaciskania drobnych naczyń (27). Jednak zespół sercowo-nerkowy może być tylko częściowo związany z zaburzeniami czysto hemodynamicznymi (29). Dodatkowo wpływ na progresję niewydolności nerek mają czynniki biochemiczne, strukturalne, zakrzepowo-zatorowe, a także neurohormonalne (30). Co więcej, pojawiły się nowe doniesienia o związku migotania przedsionków z obniżeniem funkcji nerek, co jest tłumaczone zjawiskiem mikrozatorowości (31). Badanie Beyer-Westendorfa wykazało związek punktacji w skali CHA_2DS_2-VASc z pogorszeniem filtracji kłębuszkowej (32). Nerki bowiem, są jednym z narządów najbardziej narażonych na powikłania mikrozatorowości z uwagi na to, że w każdej minucie przepływa przez nie co najmniej 20% całkowitej objętości krwi krążącej (33). Podobny mechanizm może być współodpowiedzialny za spadek eGFR w populacji chorych z HF. W HF występuje stan zwiększonej gotowości prozakrzepowej, który jest jednym z trzech podstawowych elementów triady Virchowa (nadmierna krzepliwość krwi, zaburzenia przepływu krwi oraz uszkodzenie ściany naczynia krwionośnego) (34, 35). Ponadto uszkodzony śródbłonek stanowi niezależne źródło ryzyka powikłań zatorowo-zakrzepowych (36), mogących prowadzić do tworzenia się mikrozatorów w łożysku nerkowym.

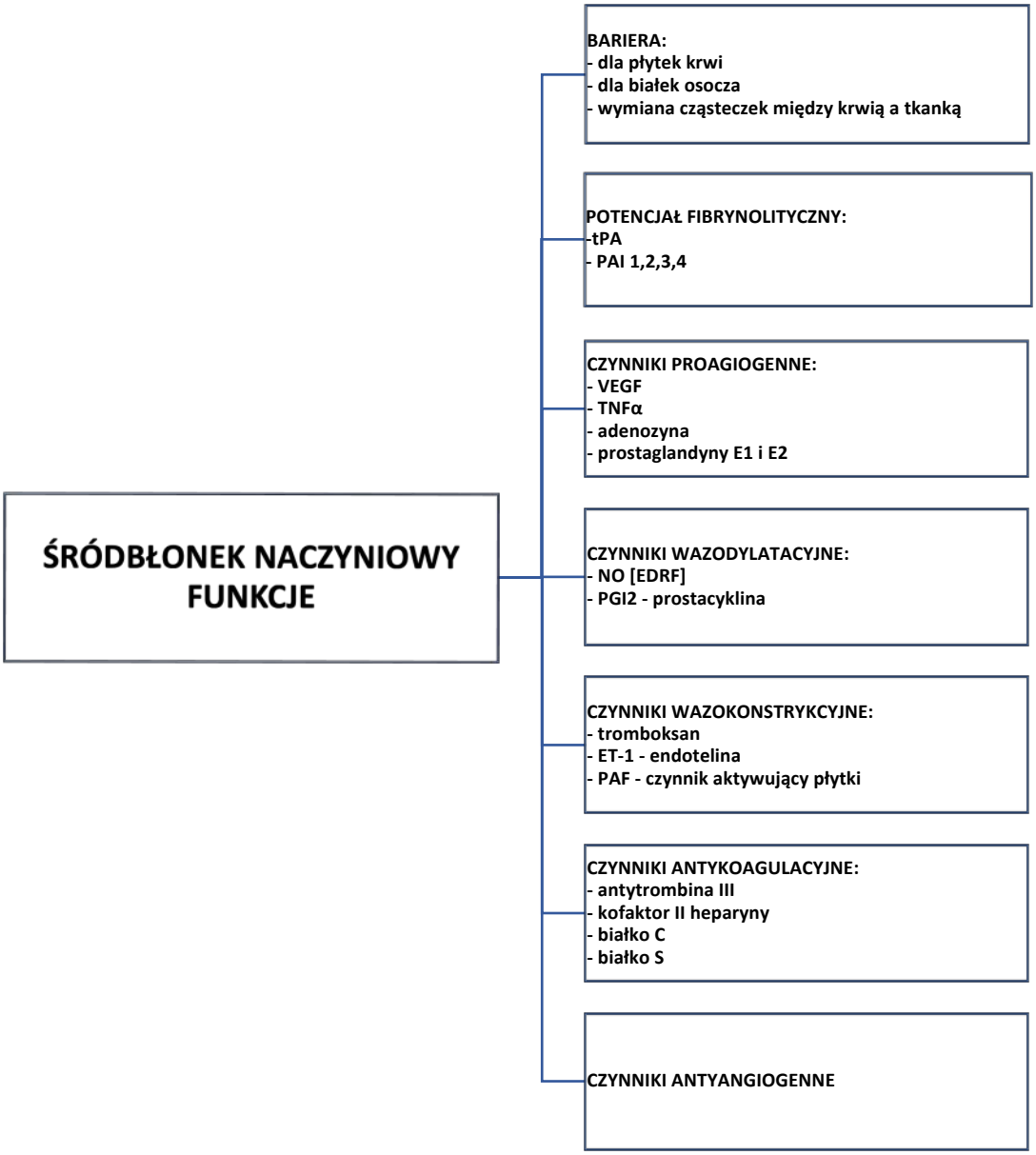
Dysfunkcja śródbłonka opisywana jest jako jedna z głównych przyczyn zespołu sercowo-nerkowego (37-39). Śródbłonek naczyniowy odgrywa szczególnie istotną rolę w regulacji funkcji nerek. W nerce występuje wiele typów komórek śródbłonka charakteryzujących się odmiennościami strukturalnymi i funkcjonalnymi. Śródbłonek kłębuszków jest silnie przepuszczalny (fenestrowany) i uczestniczy w procesie filtracji kłębuszkowej oraz podtrzymuje strukturę podocytów (40, 41). Śródbłonek naczyń włosowatych cewek nerkowych bierze udział w transporcie i reabsorpcji składników (42). Natomiast śródbłonek dużych i małych naczyń bierze udział w unaczynieniu i prawidłowym przepływie krwi przez nerki. Funkcja komórek śródbłonka jest regulowana przez czynniki zakrzepowe, czynniki stanu zapalnego i cząsteczki komplementu (43). Jednocześnie uszkodzenie komórek śródbłonka przez toksyny, aktywne formy tlenu, przeciwciała, cytokiny prozapalne czy zaburzenie homeostazy czynników ochronnych dla śródbłonka może prowadzić do uszkodzenia funkcji nerek i w konsekwencji do zmniejszonej filtracji kłębuszkowej (44-46).

1.6 Śródbłonek i jego funkcja

Śródbłonek naczyniowy stanowi pojedyncza warstwa komórek wyścielająca ścianę naczyń krwionośnych o multipotencjalnym działaniu. Szacuje się, że w organizmie dorosłego człowieka komórki śródbłonka zajmują około 700-2000 m^2 powierzchni (47). Stanowią one metabolicznie i fizjologicznie aktywną strukturę, która kontroluje funkcje naczyń oraz reguluje funkcjonowanie całego organizmu. Wydziela on liczne substancje takie jak: prostaglandyny o działaniu naczyniorozszerzającym, tlenek azotu [NO], zależne od śródbłonka czynniki hiperpolaryzujące błonę komórkową, a także czynniki obkurczające naczynia (48). Jest to niezwykle niejednorodna tkanka,

w zależności od lokalizacji oraz od stanu fizjologicznego i warunków hemodynamicznych, komórki śródbłonka mogą mieć inny fenotyp powierzchniowy, a także są w stanie indywidulanie reagować na poszczególne bodźce takie jak m.in. chemokiny czy czynniki zapalne (49).

Rycina 2. Śródbłonek naczyniowy, jego funkcje.



Zmodyfikowano na podstawie: P. Trojan, Śródbłonek – niedoceniany organ. 1. Budowa i rola w procesach fizjologicznych, Kosmos, 2014 (47)

Śródbłonek odgrywa istotną rolę w regulacji i utrzymywaniu homeostazy przepływu naczyniowego. Zadaniem śródbłonka jest utworzenie aktywnej antyzakrzepowej powierzchni, która umożliwia transport osocza i składników morfotycznych krwi przez układ naczyniowy (50). Wydziela on liczne czynniki antykoagulacyjne, które w warunkach fizjologicznych mają przewagę nad tymi prokoagulacyjnymi. Jednym z najważniejszych jest antytrombina III, której funkcją jest hamowanie aktywnych czynników krzepnięcia, m. in. czynnika II (trombiny). Funkcję pomocniczą dla tego procesu pełnią zlokalizowane na powierzchni śródbłonka glikozaminoglikany, posiadające grupy heparynowe stanowiące aktywujący kofaktor dla antytrombiny III (51). Komórki śródbłonka naczyniowego biorą czynny udział we wszystkich głównych szlakach hemostatycznych w przypadku uszkodzenia naczynia oraz ograniczają proces zakrzepowy do miejsca uszkodzenia, chroniąc inne obszary przed nadmiernym wykrzepianiem. Utrzymujący się stan zapalny czy też przepływ turbulentny i towarzyszące podwyższone siły ścinające działające na naczynia, destabilizują funkcję śródbłonka, indukując jego przejście w fenotyp indukujący procesy prozakrzepowe oraz fibrynolityczne (50, 52).

1.6.1 Metody oceny funkcji śródbłonka i biomarkerów zakrzepowych

Stopień uszkodzenia śródbłonka i biomarkerów krzepnięcia ocenia się poprzez oznaczenia jego markerów we krwi, a dysfunkcję śródbłonka dodatkowo metodami fizycznymi.

W celu potwierdzenia hipotezy badawczej na podstawie dostępnego piśmiennictwa zostały wybrane parametry, które potencjalnie najlepiej odzwierciedlają zaburzenia występujące w populacji pacjentów z HF.

1.6.1.1 Markery dysfunkcji śródbłonka:

Jednym z podstawowych, najbardziej specyficznych markerów śródbłonka jest tlenek azotu [NO]. Niemniej jednak jest substancją wysoce nietrwałą i często jego oznaczenia są niewiarygodne. Tlenek azotu jest produkowany z L-argininy przez enzym śródbłonkowej syntazy tlenku azotu [eNOS]. Ten podstawowy czynnik naczyniorozszerzający [EDRF] jest uwalniany z komórek śródbłonka pod wpływem sił ścinających przepływającej krwi działających na naczynia. Tlenek azotu poza swoimi podstawowymi naczyniorozszerzającymi właściwościami ma multipotencjalne działanie: hamuje syntezę czynników prozapalnych, ogranicza przerost komórek mięśni gładkich w ścianie naczyniowej oraz hamuje adhezję płytek krwi. Zaburzenia wydzielania tlenku azotu prowadzą do obkurczania ścian naczyniowych, zwiększonej gotowości zakrzepowo-zatorowej, proliferacji błony mięśniowej oraz zwiększonej aktywności prozapalnej. W związku z trudnościami w ocenie stężenia tego podstawowego markera skupiono się na możliwości oznaczeń innych markerów wpływających na jego produkcję i biodostępność.

Jednym z takich markerów jest asymetryczna dimetyloarginina [ADMA] – silny inhibitor syntazy tlenu azotu [eNOS]. ADMA jest naturalnie występującym analogiem L- argininy, dzięki swojemu chemicznemu podobieństwu kompetycyjnie blokuje aktywność syntazy NO, zmniejszając jego stężenie i działanie naczyniorozszerzające. Zwiększone stężenie ADMA jest markerem dysfunkcji śródbłonka, skutkuje proliferacją mięśni gładkich, działaniem proaterogennym oraz zmniejszoną podatnością naczyń krwionośnych (53). Zwiększone stężenie ADMA było stwierdzane w wielu stanach chorobowych związanych z uszkodzeniem śródbłonka takich jak: nadciśnienie tętnicze,

przewlekłe zespoły wieńcowe, stan przedrzucawkowy, cukrzyca, przewlekła choroba nerek (54-56). Większe stężenia ADMA są związane z progresją albuminurii i proteinurii w populacji chorych z cukrzycą typu 2 (57). ADMA jest uznanym biomarkerem dysfunkcji śródbłonka związanym zarówno ze zwiększonym ryzykiem sercowo naczyniowym (53) jak i progresją niewydolności nerek (58-60).

1.6.1.2 Metody fizyczne oceny funkcji śródbłonka

- ultrasonograficzna ocena reaktywności tętnicy ramiennej w odpowiedzi na zmianę przepływu [FMD] (flow-mediated dilatation)

Jedną z podstawowych, uznanych metod oceny czynności śródbłonka jest FMD– ultrasonograficzna ocena reaktywności tętnicy ramiennej w odpowiedzi na zmianę przepływu. Technika badania opiera się na zjawisku rozszerzania naczynia w odpowiedzi na zwiększone siły ścinania działające na ich ścianę. Zjawisko jako pierwszy opisał Schretzenmayer w 1933 roku (61).

Siły ścinające są w głównej mierze powodowane przepływem krwi, a wektor siły skierowany jest równolegle do długiej osi naczynia. Śródbłonek naczyniowy działa jak swoisty przetwornik, który wykrywając zmiany naprężenia ścinającego, w odpowiedzi modyfikuje uwalnianie czynników rozszerzających, regulując tym samym przepływ krwi w obrębie danego łożyska. Odzwierciedleniem upośledzonej funkcji śródbłonka i jego zdolności do produkcji i uwalniania tlenku azotu jest zmniejszona odpowiedź w FMD, tzn. mniejsza rozszerzalność badanego naczynia w odpowiedzi na stymulację (62). U osób zdrowych prawidłowe wartości FMD oscylują około 7-10%, a u pacjentów z miażdżycą wartość ta jest obniżona.

FMD jest badaniem nieinwazyjnym, z reguły przeprowadzanym na tętnicy ramiennej. Zwiększony przepływ krwi przez tętnicę ramienną jest wywołany przez

rozszerzenie łożyska tętniczego w obrębie przedramienia w odpowiedzi na niedokrwienie. Jest to osiągane przez napompowanie mankietu ciśnieniomierza w obrębie przedramienia powyżej wartości ciśnienia skurczowego. Po spuszczeniu powietrza z mankietu dochodzi do gwałtownego wzrostu przepływu naczyniowego. Wywołuje to działanie nasilonych sił ścinających działających na tętnicę ramienną, powodując uwolnienie większych ilości tlenku azotu i jej poszerzenie, które oceniane jest przy pomocy ultrasonografii (63).

- analiza fali tętna [PWA]

Drugą z metod stosowaną do pośredniej oceny funkcji śródbłonka oraz sztywności naczyń w sposób nieinwazyjny jest analiza fali tętna - pulse wave analysis [PWA]. W tej metodzie przy pomocy tonometru aplanacyjnego rejestruje się falę tętna na tętnicy promieniowej. Technika badania pozwala na oszacowanie sztywności dużych i małych naczyń, a także rzutu minutowego serca (64). Zwiększona sztywność dużych naczyń jest istotnym czynnikiem gorszego rokowania oraz progresji HF i zwiększonej śmiertelności (65-68). Ponadto może mieć związek z progresją niewydolności nerek (69-72). Jak wykazano w piśmiennictwie obniżenie elastyczności małych naczyń odzwierciedla uszkodzenie śródbłonka i może być stosowane do oceny jego dysfunkcji czynnościowej (73, 74).

1.6.1.3 Biomarkery krzepnięcia i fibrynolizy:

Wiele jest potencjalnych biomarkerów odzwierciedlających zaburzenia krzepnięcia i fibrynolizy. Poniżej przedstawiono omówienie wybranych biomarkerów, które zostały włączone do analiz.

- Trombomodulina

Trombomodulina jest przezbłonowym proteoglikanem występującym na powierzchni komórek śródbłonka. Trombomodulina poprzez tworzone kompleksy z trombiną hamuje tworzenie fibryny i aktywuje białko C o działaniu hamującym kaskadę krzepnięcia. W przypadku działania na śródbłonek uszkadzających czynników, m. in. cytokin prozapalnych, stresu oksydacyjnego, dochodzi do odszczepienia zewnątrzbłonowego fragmentu proteoglikanu, tzw. rozpuszczalnej trombomoduliny (soluble TM, sTM) i występowania jej zwiększonego stężenia w surowicy, będącego jednocześnie markerem uszkodzonego śródbłonka (75-77). Tym samym tak uszkodzona trombomodulina traci swoje antykoagulacyjne właściwości.

- Czynnik von Willenbranda (vWF)

Czynnik von Willenbranda (vWF) jest uznanym markerem dysfunkcji śródbłonka oraz zwiększonej gotowości prozakrzepowej. Jest to glikoproteina produkowana przez komórki śródbłonka oraz megakariocyty i wydzielana do krwioobiegu po stymulacji przez mediatory procesów krzepnięcia. Czynnik vWF odpowiada m.in. za procesy adhezji płytek oraz transport czynnika VIII, a jego stężenie rośnie z wiekiem w chorobach układu sercowo-naczyniowego oraz układowych chorobach tkanki łącznej i stanach zapalnych (77-79).

- Inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 [PAI-1]

PAI-1 jest inhibitorem proteazy serynowej produkowanym przez komórki śródbłonka naczyniowego, także w mniejszym stopniu przez adipocyty. PAI-1 wpływa hamująco na tkankowy aktywator plazminogenu [tPA], ograniczając tym samym

aktywność fibrynolityczną osocza. Stężenie PAI-1 rośnie w wielu stanach chorobowych związanych ze zwiększonym stanem zapalnym, m.in. w nowotworach, otyłości czy zespole metabolicznym. Ponadto na wzrost syntezy PAI-1 wpływa angiotensyna II, której stężenie wzrasta w wielu stanach chorobowych układu sercowo-naczyniowego (80-82).

-Tkankowy aktywator plazminogenu [tPA]

tPA jest proteazą serynową przekształcającą plazminogen w plazminę poprzez rozerwanie mostka disiarczkowego, co skutkuje zwiększoną aktywnością fibrynolityczną osocza. Jest produkowany przez komórki wyścielające ścianę naczyń.

Mimo, że tPA jest cząsteczką specyficzną dla śródbłonka, jego oznaczenie i interpretacja wyników tych oznaczeń bywa utrudniona. W osoczu bowiem krąży zmienna proporcja wolnego tPA oraz części cząsteczek związanych/unieczynnionych przez PAI-1, co prowadzi do trudności w interpretacji, ponieważ testem ELISA oznaczane są tylko wolno krążące cząsteczki (83-86).

- kompleksy trombina-antytrombina [TAT]

Markerem niebezpośredniej oceny dysfunkcji śródbłonka, lecz jego skutków są kompleksy trombina-antytrombina [TAT]. Stężenie TAT jest odzwierciedleniem zwiększonej gotowości prozakrzepowej oraz pośrednio odzwierciedla ilość trombiny w osoczu. TAT jest kompleksem proteinowym składającym się z trombiny i antytrombiny. Jest tworzony w odpowiedzi na wysokie stężenie trombiny w osoczu spowodowane uszkodzeniem ściany naczyniowej. Okres półtrwania kompleksów TAT wynosi 15 minut (87, 88).

- fragmenty F1 + F2 protrombiny

Innym markerem zwiększonej trombinogenezy są fragmenty F1+F2 protrombiny. Protrombina jest glikoproteiną będącą bezpośrednim prekursorem trombiny. W wyniku aktywacji szlaku krzepnięcia dochodzi do odszczepienia fragmentów F1+F2 z wytworzeniem trombiny. W związku z czym fragmenty F1+F2 są pośrednim markerem ilości wytwarzanej trombiny (89-94).

-białko C

Białko C jest naturalnym antykoagulantem, inaktywuje aktywne czynniki VIIIa i Va, hamując w ten sposób tworzenie trombiny. Białko C to proteinaza serynowa produkowana w wątrobie. Do aktywacji białka C dochodzi poprzez przyłączenie trombiny do trombomoduliny w śródbłonku naczyniowym. Ponadto białko C wykazuje aktywność profibrynolityczną poprzez inaktywację PAI-1, przeciwzapalną oraz cytoprotekcyjną. Niedobór białka C powoduje przesunięcie równowagi, na stronę procesów prozakrzepowych oraz tworzenia zakrzepów w układzie żylnym (95-98).

1.7 Uszkodzenie śródbłonka w populacji pacjentów z niewydolnością serca

Do uszkodzenia funkcji śródbłonka dochodzi w HF, co może mieć istotne znaczenie w stopniowej progresji dysfunkcji nerek w tej grupie pacjentów (39). Uszkodzenie śródbłonka prowadzące do trwałej jego dysfunkcji może być konsekwencją braku równowagi pomiędzy czynnikami: naczyniorozszerzającymi i naczynioskurczowymi, pro- i antyzakrzepowymi. Uszkodzenie śródbłonka może być skutkiem działania zarówno czynników mechanicznych jak i biochemicznych, a także działających stymulująco czynników na powierzchni komórek śródbłonka prowadzących

do jego hiperaktywacji i nieadekwatnego, nadmiernego wydzielania substancji czynnych. Klinicznie dysfunkcja śródbłonka może objawiać się działaniem naczynioskurczowym, predysponującym do wykrzepiania, nadciśnieniem tętniczym czy progresją miażdżycy. Jednocześnie, zarówno nadciśnienie tętnicze jak i miażdżyca mogą być czynnikami uszkadzającymi śródbłonek (99).

„Dysfunkcja śródbłonka" jest w piśmiennictwie terminem bardzo często stosowanym do opisania nieprawidłowej funkcji śródbłonka na wielu poziomach. Tymczasem uszkodzenie śródbłonka jest procesem stopniowo postępującym w zależności od tego czy czynniki uszkadzające działają krótkotrwale czy powodują całkowite zniszczenie warstwy komórek wyścielających naczynia. W związku z tym wyróżniamy 3 różne poziomy jego uszkodzenia:

- nadmierną aktywację jego funkcji, kiedy to działające przejściowo czynniki takie jak np. cytokiny prozapalne aktywują śródbłonek i stymulują go do wydzielania zgromadzonych substancji między innymi działającego prozakrzepowo czynnika vWF;
- dysfunkcję śródbłonka, czyli zaburzenie czynnościowe skutkujące mniejszą ilością wydzielanego NO, powodujące zaburzenia autoregulacji i reaktywności naczyniowej;
- trwałe uszkodzenie śródbłonka, utratę jego funkcji regulujących i przejście w fenotyp o właściwościach trombogennych (100).

W zależności od czynników uszkadzających śródbłonek może dojść zarówno do dysfunkcji czynnościowej śródbłonka jak i przekształcenia go w fenotyp sprzyjający zakrzepicy lub może dochodzić do upośledzenia tylko niektórych jego właściwości przy zachowanym wydzielaniu tlenku azotu (101, 102).

Postępująca HF ze zmniejszonym rzutem oraz zwiększoną aktywacją neurohormonalną prowadzi do stopniowej dysfunkcji śródbłonka (103, 104). Jednocześnie uszkodzony śródbłonek przyspiesza progresję HF, tworząc błędne koło patofizjologiczne (105-108). Zaburzona funkcja śródbłonka z upośledzeniem wydzielania tlenku azotu powoduje większy opór obwodowy, co w połączeniu z postępującą sztywnością głównych naczyń w HF prowadzi do narastania obciążenia następczego oraz potęguje powiększanie się wymiaru lewej komory i dysfunkcję mięśnia sercowego jako pompy (109). Zwiększona aktywność neurohormonalna oraz istotnie mniejsze siły ścinające działające na ściany naczyń prowadzą do zmniejszonej produkcji tlenku azotu oraz przejście komórek śródbłonka w fenotyp predysponujący do działania prozakrzepowego (11, 110, 111).

1.8 Związek uszkodzonego śródbłonka w HF i podłoże patogenetyczne powstającego zespołu sercowo-nerkowego typu 2

HF jest stanem zwiększonej gotowości prozakrzepowej z towarzyszącą dysfunkcją śródbłonka (35, 36, 112-114). Istnieje wiele publikacji potwierdzających tę tezę, jednak z przeprowadzonego przeglądu piśmiennictwa wynika, że istnieje niewiele doniesień badających zależności między poszczególnymi czynnikami zakrzepowymi, a innymi parametrami echokardiograficznymi czy hemodynamicznymi w tej populacji chorych.

Opierając się na wynikach dotychczasowych badań i metaanaliz, w wytycznych ESC nie zalecono standardowego, rutynowego stosowania leków przeciwzakrzepowych u chorych z HF i rytmem zatokowym (115). Wydaje się, że przyczyna braku skuteczności terapii przeciwkrzepliwej jest złożona i może wynikać z faktu zróżnicowania chorych z HF

o różnym stopniu nasilenia stresu oksydacyjnego, dysfunkcji śródbłonka a także zwiększonej gotowości prozakrzepowej.

Należy jednak podkreślić, że istnieją pojedyncze doniesienia dowodzące, iż stosowanie heparyn drobnocząsteczkowych w populacji z HF oprócz poprawy przepływu na poziomie mikrokrążenia oraz działania przeciwzapalnego, prowadzi do poprawy parametrów hemodynamicznych i obniżenia stężenia hormonów natriuretycznych (116). Ponadto stosowanie heparyny u pacjentów w klasie II-IV wg NYHA, u których stwierdzano nadmierną aktywację prozakrzepową (wyrażoną podwyższonymi wartościami D-dimerów, fragmentów protrombiny, a także mniejszą aktywnością białka C), powodowało normalizację tego stanu (117). Wykazano także, że u chorych, u których leczenie diuretyczne było nieskuteczne pomimo stosowania amin presyjnych, zastosowanie heparyny przyczyniało się do przełamania oporności na diuretyki (118).

Z dostępnych informacji wynika, że w żadnym z dotychczasowych badań u chorych z HF nie oceniano związku zwiększonej aktywacji prozakrzepowej z parametrami biochemicznymi wydolności nerek, a także z oceną czynnościową funkcji śródbłonka. Biorąc pod uwagę niejednoznaczne wyniki z dotychczasowych badań, nie można wykluczyć, że w zaawansowanej HF w grupie chorych, u których rozwija się niewydolność nerek, istotną rolę może odgrywać zaawansowana dysfunkcja śródbłonka potencjalnie prowadząca do zaburzeń w obrębie aktywatorów i inhibitorów procesów krzepnięcia i aktywacji prozakrzepowej, a w konsekwencji do mikrozakrzepicy w obrębie nerek.

W dotychczasowych pracach udokumentowano, iż w przebiegu HF dochodzi do dysfunkcji śródbłonka, co pogarsza rokowanie. Należy podkreślić, że dysfunkcja śródbłonka obejmuje także zaburzenia krążenia żylnego, prowadząc do zwiększonego

ryzyka zakrzepicy (119). Migliacci i wsp. (113) przeanalizowali pacjentów z objawową zakrzepicą w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej. Autorzy wykazali, że w grupie pacjentów z przebytą objawową zakrzepicą występują zarówno zaburzenia czynnościowe śródbłonka jak i jego nadmierna aktywacja (wyższe wartości vWF). Przesłanki z badań wykazujących wpływ heparyny na stan kliniczny chorych z HF (116) oraz poprawę parametrów zakrzepowych (117) wskazują na celowość poszukiwania nowego podejścia do leczenia przeciwkrzepliwego.

Nie można wykluczyć, iż zastój żylny oraz dysfunkcja śródbłonka, w połączeniu ze stanem zwiększonej gotowości prozakrzepowej jest istotnym czynnikiem ryzyka zakrzepicy oraz zatorowości w HF (120). W związku z tym uzasadniona wydaje się hipoteza, że u części pacjentów niewydolność nerek w HF może być spowodowana mikrozakrzepicą drobnych naczyń w obrębie miąższu nerki, co może być związane z następstwem zaburzeń funkcji śródbłonka. Wykazanie związku pomiędzy nasiloną dysfunkcją śródbłonka a aktywacją prozakrzepową i w konsekwencji zaburzeniami ukrwienia nerek i ich niewydolnością potencjalnie przyczyni się do lepszego poznania mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój zespołu sercowo-nerkowego. Może to prowadzić do wyodrębnienia populacji chorych, u których zastosowanie zindywidualizowanego podejścia terapeutycznego hipotetycznie przyczyniłoby się do poprawy rokowania i zmniejszyłoby ryzyko rozwoju powikłań zakrzepowo-zatorowych.

W oparciu o dane z piśmiennictwa, wskazujące na istotne znaczenie dysfunkcji śródbłonka i nieprawidłowości biomarkerów zakrzepowych, zaplanowano badanie oceniające związek wybranych parametrów z funkcją nerek w populacji chorych z HF.

2. Cele pracy:

1. Ocena wybranych biomarkerów krzepnięcia i funkcji śródbłonka w populacji chorych z HF oraz ocena ich korelacji z parametrami biochemicznymi, hemodynamicznymi i echokardiograficznymi.
2. Porównanie wybranych biomarkerów zakrzepowych pomiędzy grupą badaną z HF, a grupą kontrolną bez HF.
3. Identyfikacja parametrów związanych z upośledzoną funkcją nerek w populacji chorych z HF.
4. Określenie związku pomiędzy biomarkerami układu krzepnięcia i funkcji śródbłonka a niewydolnością nerek w przebiegu HF.

3. Hipoteza badawcza:

1. Hipoteza zerowa: HF jest stanem zwiększonej aktywności prozakrzepowej.

   Hipoteza alternatywna: Nie ma różnic w odniesieniu do biomarkerów pro i antyzakrzepowych pomiędzy badanymi grupami (pacjenci z HF vs grupa kontrolna – bez HF).
2. Hipoteza zerowa: Zaburzenie homeostazy biomarkerów pro i antyzakrzepowych oraz markerów dysfunkcji śródbłonka jest czynnikiem silnie związanym z niewydolnością nerek u chorych z HF.

   Hipoteza alternatywna: Nie ma związku między dysfunkcją śródbłonka i zaburzeniami w obrębie biomarkerów krzepnięcia a niewydolnością nerek w badanej populacji.

4. Materiał i metody:

4.1 Populacja badana

Badanie miało charakter przekrojowy. Do badania zostało włączonych 36 pacjentów (grupa badana) oraz 19 wolontariuszy – osób bez HF (grupa kontrolna dobrana pod względem wieku i płci do grupy badanej). Grupę badaną stanowili pacjenci z HF w klasie II-IV wg klasyfikacji NYHA hospitalizowani w trybie planowym w Klinice Niewydolności Serca i Transplantologii Narodowego Instytutu Kardiologii. Chorzy byli przyjmowani w trybie planowym w celu przeprowadzenia diagnostyki HF i ustalenia dalszego sposobu postępowania, w tym rozważenia wskazań do inwazyjnego leczenia zaawansowanej HF – kwalifikacji do mechanicznego wspomagania krążenia i/lub transplantacji serca. Pacjenci do badania byli włączani w kolejności przyjęcia na hospitalizację. Wszystkie niezbędne informacje kliniczne, włączając choroby współistniejące oraz wszelkie niezbędne dane charakteryzujące populację badaną, były uzyskiwane z dokumentacji medycznej oraz uzupełniane na podstawie bieżącego badania podmiotowego i przedmiotowego w momencie przyjęcia chorego do Kliniki. Wszyscy pacjenci oraz wolontariusze z grupy kontrolnej podpisali świadomą zgodę na udział w badaniu. Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Narodowego Instytutu Kardiologii (nr zgody 1543).

4.1.1 Kryteria włączenia i wykluczenia z badania

Do badania byli włączani pacjenci z HF z obniżoną frakcją wyrzutową [EF] lewej komory hospitalizowani w Klinice Niewydolności Serca i Transplantologii, którzy wyrazili świadomą zgodę na udział w badaniu.

4.1.1.1 Kryteria włączenia stanowiły:

- rozpoznana HF na podstawie objawów klinicznych i obiektywnych kryteriów upośledzonej czynności skurczowej EF ≤40% na podstawie badania echokardiograficznego,
- HF w klasie czynnościowej II-IV wg NYHA,
- rytm zatokowy,
- wiek powyżej 18 r.ż.
- nieobecność kryteriów wyłączających.

4.1.1.2 Kryteria wykluczenia stanowiły:

- choroba nowotworowa w wywiadzie,
- otępienie,
- migotanie przedsionków,
- leczenie przeciwzakrzepowe w okresie 3 miesięcy poprzedzających hospitalizację,
- niewydolność nerek spowodowana pierwotną chorobą nerek,
- zakażenie wymagające zastosowania antybiotykoterapii w okresie 3 miesięcy poprzedzających hospitalizację,
- brak zgody na udział w badaniu.

4.2 Metodyka

4.2.1 Badanie echokardiograficzne

Badania echokardiograficzne były wykonywane następnego dnia po przyjęciu, na aparacie GE Vivid 6S przez jednego echokardiografistę według jednolitego protokołu w celu otrzymania porównywalnych wyników. Ocena echokardiograficzna była

przeprowadzona w standardowych projekcjach: przymostkowej osi długiej i krótkiej, projekcji cztero-, pięcio-, trójjamowej, projekcji pod- oraz nadmostkowej. Wszystkie pomiary echokardiograficzne były wykonywane zgodnie z ogólnie przyjętymi standardami.

4.2.2 Ocena funkcji śródbłonka metodami fizycznymi

Ocena funkcji śródbłonka była dokonywana za pomocą FMD oraz poprzez badanie podatności naczyń PWA. Badania zostały wykonane u wszystkich pacjentów włączonych do badania.

4.2.3. Ultrasonograficzna ocena reaktywności tętnicy ramiennej w odpowiedzi na zmianę przepływu – flow mediated dilatation [FMD]

FMD było wykonywane rano, na czczo, po co najmniej dwunastogodzinnej przerwie od ostatniego posiłku oraz przyjętych leków. Pomieszczenie było ciemne, odizolowane od zewnętrznych bodźców akustycznych oraz miało stałą temperaturę otoczenia około 22-24°C. Ocenę śródbłonka wykonywano w pozycji leżącej po 10-minutowym okresie adaptacji. Prawa tętnica ramienna była uwidaczniania w projekcji podłużnej 2D, 4-5cm powyżej dołu łokciowego, przy użyciu dopplerowskiej głowicy liniowej o częstotliwości 7-12MHz. Następnie rejestrowano ultrasonograficzne obrazy dwuwymiarowe, w pierwszym etapie średnicę tętnicy ramiennej w projekcjach podłużnych w spoczynku oraz prędkość przepływu krwi. Ostrość była ustawiana na ścianę bliższą naczynia. Wszystkie parametry techniczne obrazu nie były modyfikowane do końca badania. Prędkość przepływu oceniano metodą Dopplera ze środka naczynia, kąt pomiaru w stosunku do osi długiej tętnicy wynosił 60°. Następnie pompowano

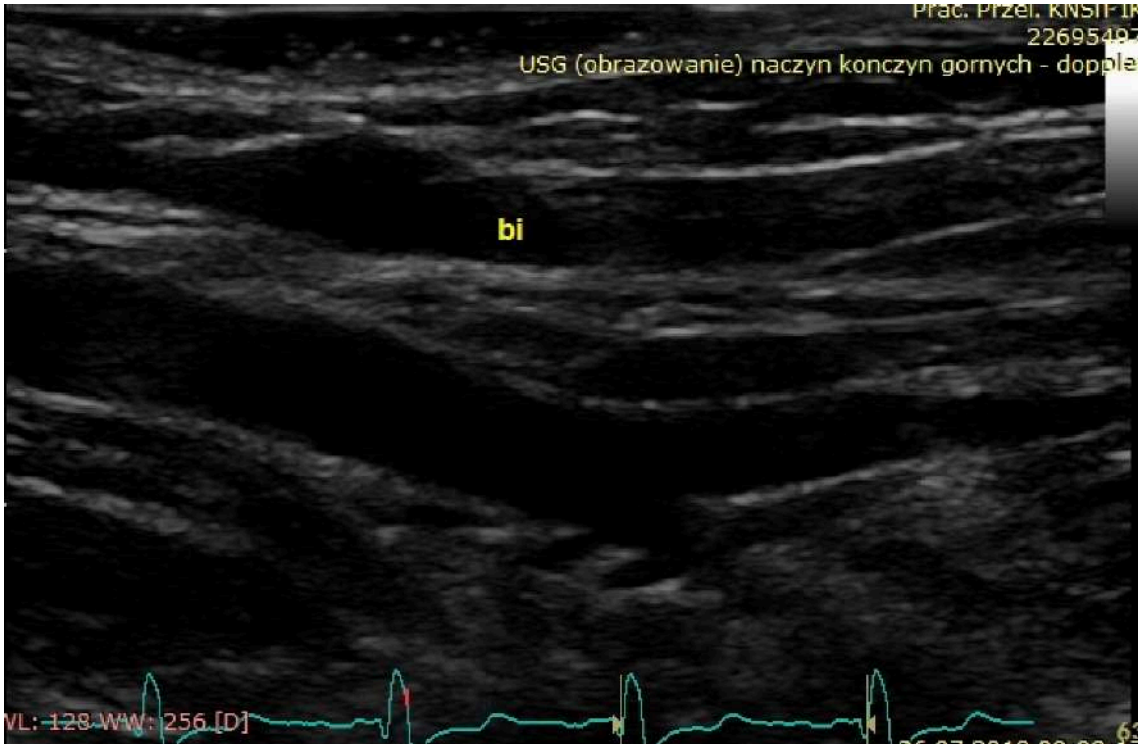
mankiet sfigmomanometru, umieszczonego uprzednio w dystalnej części przedramienia prawego, poniżej miejsca pomiaru średnicy naczynia, do wartości przekraczającej wartość ciśnienia skurczowego o 40mmHg. Po 5 minutach mankiet sfigmomanometru luzowano oraz oceniano przepływ w 15 s po przywróceniu przepływu w naczyniu oraz ocenę średnicy naczynia w 1 minucie po przywróceniu przepływu.

Napompowanie mankietu powyżej ciśnienia skurczowego miało na celu czasowe zatrzymanie przepływu w naczyniu i zredukowanie sił ścinających. Przekrwienie bierne następujące po zluzowaniu mankietu wynikało ze znacznie większego przepływu jednocześnie z gwałtownym wzrostem sił ścinających wpływających na śródbłonek naczyń obwodowych, powodując zwiększone uwalnianie tlenku azotu.

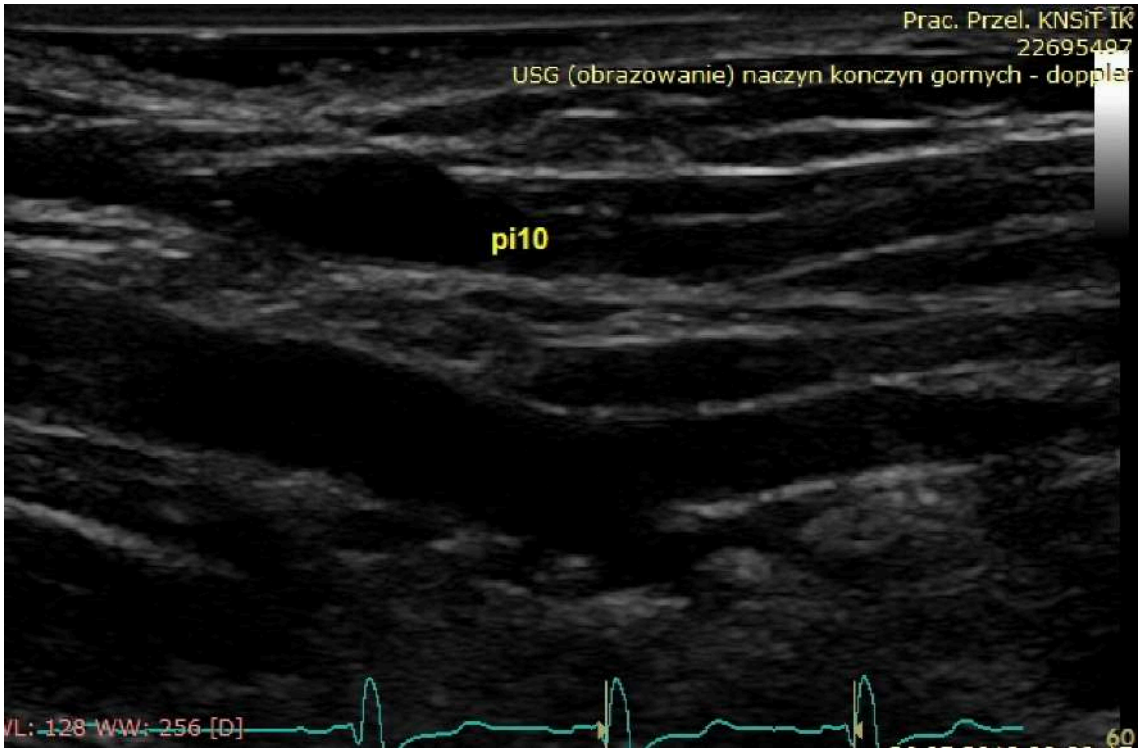
Następnie otrzymane obrazy analizowano, oceniając stopień poszerzenia tętnicy ramiennej wywołany zmianą przepływu w stosunku do średnicy naczynia przed napompowaniem mankietu.

Analizę średnicy naczynia przeprowadzano w końcowej fazie rozkurczu, od granicy pomiędzy ścianą bliższą, a światłem naczynia do granicy pomiędzy światłem tętnicy a ścianą dalszą. Pomiary uśredniano z trzech kolejnych cykli w celu uzyskania dokładniejszych wyników. Szerokość naczynia oceniana była w 1 minucie od poluzowania sfigmomanometru. Reakcja naczyniowa na przekrwienie bierne była wyrażona w % jako różnica maksymalnego wymiaru naczynia po niedokrwieniu i średnicy wyjściowej.

Rycina 3. Obraz ultrasonograficzny tętnicy ramiennej w FMD.



Tętnica ramienna przed zaciśnięciem mankietu sfigmomanometru.



Tętnica ramienna po pierwszej minucie po przywróceniu przepływu.

$FMD = (P_{niedokr} - P_{wyjściowe})/P_{wyjściowe} \times 100\%$

Gdzie:

$P_{niedokr}$ - średnica naczynia po przywróceniu przepływu

$P_{wyjściowe}$ - średnica wyjściowa – przed zaciśnięciem mankietu

4.2.4 Analiza fali tętna [PWA]

Analizę fali tętna wykonywano tego samego dnia, w tych samych warunkach otoczenia za pomocą tonometru aplanacyjnego (HDI/PulseWave^{TM} CR-2000) założonego nad prawą tętnicę promieniową w okolicy nadgarstka prawego z jednoczesnym pomiarem ciśnienia tętniczego na lewej tętnicy ramiennej. Za pomocą urządzenia rejestrowano ciśnienie propagacji fali tętna na tętnicy promieniowej, komputerowo kalibrowano je względem ciśnienia systemowego mierzonego na przeciwległej tętnicy ramiennej. Aparat automatycznie generował krzywą propagacji fali tętna w aorcie wstępującej i na jej podstawie automatycznie analizował elastyczność dużych i małych naczyń oraz wyliczał czas wyrzutu i szacował rzut serca (121).

Fala tętna jest opisywana jako fala ciśnieniowa powstająca w każdym cyklu pracy serca poprzez wyrzut krwi do aorty podczas skurczu mięśnia sercowego. Fala ta ulega propagacji do naczyń włosowatych, tworząc odkształcenia ścian tętnic. Następnie odbija się od tętniczek oporowych i jako fala odbita wraca do serca.

Elastyczność dużych naczyń (LAEI) – indeks elastyczności odzwierciedla sztywność i zmniejszenie podatności aorty i dużych pni tętniczych w wyniku zmian strukturalnych i zwyrodnieniowych postępujących z wiekiem. Elastyczność małych

naczyń (SAEI) – określa stopień dysfunkcji śródbłonka w mikrokrążeniu i kapilarach (122).

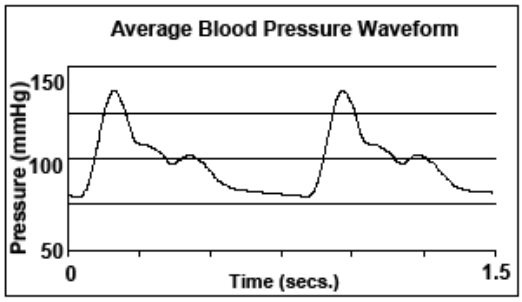
Rycina 4. Przykładowy wynik pomiarów z analizy PWA.

HDI/*PulseWave*™ CR-2000

Research CardioVascular Profile Report

Research Subject ID:
Protocol 1743
Research Subject Name:
DOE, JOHN M

Date: 23 SEPT 1999
Time: 14:35
Age: 34 years
Gender: Male
Height: 71 in
Weight: 189 lbs.
BSArea: 2.06 sq. meters
Body Mass Index: 26.4



PARAMETER	RESEARCH SUBJECT VALUE
SYSTOLIC BLOOD PRESSURE (mmHg)	136
DIASTOLIC BLOOD PRESSURE (mmHg)	79
MEAN ARTERIAL BLOOD PRESSURE (mmHg)	102
PULSE PRESSURE (mmHg)	57
PULSE RATE (beats/min)	72
ESTIMATED CARDIAC EJECTION TIME (msec)	293
ESTIMATED STROKE VOLUME (ml/beat)	87
ESTIMATED STROKE VOLUME INDEX (ml/beat/m^2)	42
ESTIMATED CARDIAC OUTPUT (L/min)	6.3
ESTIMATED CARDIAC INDEX (L/min/m^2)	3.1
LARGE ARTERY ELASTICITY INDEX (ml/mmHg x 10) (Capacitive Arterial Compliance)	14.9
SMALL ARTERY ELASTICITY INDEX (ml/mmHg x 100) (Oscillatory or Reflective Arterial Compliance)	11.1
SYSTEMIC VASCULAR RESISTANCE (dyne•sec•cm^{-5})	1226
TOTAL VASCULAR IMPEDANCE (dyne•sec•cm^{-5})	111

©Copyright 1999, HYPERTENSION DIAGNOSTICS Inc.™ – All Rights Reserved.
Eagan, MN 55121 +1-651-687-9999 Toll-Free: 1-888-*PulseWave* (785-7392)

Form: 00017-001 (Rev. A / 08.Oct.99) *"For Research Purposes Only"*

4.2.5 Badania laboratoryjne

Krew na podstawowe badania laboratoryjne pobierano w pierwszych dwóch dobach hospitalizacji łącznie z próbkami do oznaczeń biomarkerów zakrzepowych. Wskaźnik filtracji kłębuszkowej oszacowano na podstawie wzoru MDRD [Modification of Diet in Renal Disease]. Wszystkie badania biochemiczne i morfologia krwi przeprowadzane były w standardowym laboratorium Narodowego Instytutu Kardiologii.

4.2.6 Biomarkery zakrzepowe i funkcji śródbłonka

W celu przeprowadzenia oceny zaburzonej homeostazy – gotowości prozakrzepowej, fibrynolitycznej i dysfunkcji śródbłonka w grupie pacjentów z HF oceniono wybrane markery, przedstawione w Tabeli nr 1.

Tabela 1. Wybrane biomarkery zakrzepowe, dysfunkcji śródbłonka

Biomarkery zwiększonej gotowości zakrzepowej i dysfunkcji śródbłonka	**Biomarkery antyzakrzepowe**
TAT	Białko C
F1+ F2	tPA
PAI-1	
sTM	
vWF	
ADMA – marker dysfunkcji śródbłonka	

Próbki krwi do analiz biomarkerów zakrzepowych i fibrynolizy (Tabela 1) pobierano tego samego dnia, łącznie z podstawowymi badaniami laboratoryjnymi. Do wszystkich testów używano krwi żylnej pobranej do probówek z EDTA. Próbki krwi wirowano natychmiast po pobraniu z prędkością 3,000 xg 15 min w temperaturze pokojowej (dla oznaczeń TAT, F1+F2, tPA, ADMA, PAI-1 i vWF) oraz z prędkością 1,000 xg przez 30 min w temperaturze pokojowej dla sTM. Próbki z osoczem zostały następnie rozdzielone i zamrożone w temperaturze -80°C do czasu przeprowadzenia odpowiednich analiz. Wszystkie oznaczenia przeprowadzono zgodnie z zaleceniami producentów testów do oznaczeń.

Stężenie ADMA oceniono przy zastosowaniu testu immunoenzymatycznego z wykorzystaniem ADMA Express ELISA Kit, nr katalogu: K 7860 (Immundiagnostik AG, Bensheim Germany). Oznaczenia przeprowadzano z nierozcieńczonych próbek o objętości 50µl. Stężenie ADMA w każdej z próbek było szacowane przez ekstrapolację wartości gęstości optycznej względem krzywej standardowej. Absorpcja była mierzona na 450 nm przez: Ledetect 96 Microplate Reader (Labexim Products, Lengau, Austria) w porównaniu do 620 nm dla wartości referencyjnej. Czułość metody wynosi 0,04 µmol/, a reaktywność krzyżowa z SDMA <0,6%. Całkowity współczynnik zmienności w obrębie badania wynosił 6,8%, a pomiędzy testami wynosił 9,2%.

Fragmenty ludzkiej protrombiny 1+2 (F1+F2) były oznaczane w osoczu przy użyciu immunoenzymatycznego testu z wykorzystaniem ELISA Kit, nr katalogu 201-12-1138 (Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd China). Oznaczenia przeprowadzono z nierozcieńczonych próbek o objętości 40 µl. Ilość F1+F2 w każdej z próbek było szacowane przez ekstrapolację wartości gęstości optycznej względem

krzywej standardowej. Absorpcja była mierzona przy pomocy ASYS UVM 340 (Biochrom, Cambridge, United Kingdom) na 450 nm. Czułość metody wynosiła 0,051 nmol/L.

Ilościowa ocena kompleksów trombina-antytrombina III (TAT) była przeprowadzana w osoczu za pomocą immunoenzymatycznego testu z wykorzystaniem ELISA Kit, nr katalogu ADG 833 (IMUBID® TAT ELISA, Sekisui Diagnostics GmbH, Germany). Do oznaczeń użyto próbek o objętości 100 µl rozcieńczonych w stosunku 1:20.

Test immunoenzymatyczny: IMUBIND® vWF ELISA (Sekisui Diagnostics GmbH, Germany) został wykorzystany do oznaczeń vWF w osoczu. Inhibitor aktywatora plazminogenu (PAI-1) został zmierzony przy pomocy IMUBIND® Plasma PAI-1 ELISA, Sekisui Diagnostics GmbH, Germany. Czułość metody wynosiła 2,2ng/ml; z kolei do oznaczeń trombomoduliny wykorzystano Diaclone sCD141 ELISA Kit, France z czułością do 0,31 ng/ml.

Stężenie tkankowego aktywatora plazminogenu zostało określone z próbek o objętości 50 µl rozcieńczonych w stosunku 1:20 przy pomocy testu immunoenzymatycznego ELISA Kit, nr katalogowy ET1001-1 (AssayMax™ Human tPA ELISA Kit, AssayPro United States) z czułością do 0,01ng/ml.

Aktywność białka C była określana z próbek osocza o objętości 250 µl koagulometrem Sysmex CA – 500.

4.3 Analizy statystyczne

Zmienne numeryczne, dla ujednolicenia danych, zostały przedstawione jako mediana z kwartylem dolnym (25-ty percentyl) i górnym (75-ty percentyl). Istotność statystyczna pomiędzy wartościami średnimi zmiennych o rozkładach normalnych lub

log-normalnych weryfikowano testem T-studenta (z korektą Welch'a w przypadku heterogenicznej wariancji). Nieparametryczny test Manna-Whitneya [M-W] (Wilcoxona dla 2 prób) zastosowano do porównania dystrybucji zmiennych o rozkładach skośnych. Badanie zgodności proporcji cech nominalnych przeprowadzono testem Chi-square Pearsona lub dokładnym testem Fishera, w przypadku oczekiwanej liczby obserwacji w komórkach tabeli wielodzielczej poniżej 5. Siłę liniowych związków oszacowano odpowiednimi współczynnikami korelacji Pearsona lub Spearmana, po wizualnej ocenie nieliniowości w wykresach punktowych.

W przypadku korelacji i regresji ocena eGFR była przeprowadzana po logarytmicznej transformacji zmiennej w celu zniwelowania skośnej, asymetrycznej dystrybucji. Transformacja logarytmiczna została zastosowana również do innych zmiennych z rozkładem skośnym.

W celu zbadania siły związku zmiennych z funkcją nerek, z uwagi na dużą ilość potencjalnych czynników oraz stosunkowo małą liczebność grupy, zastosowano korelację kanoniczną do utworzenia pięciu kategorii/indeksów dla określonych grup zmiennych: 1) parametrów laboratoryjnych; 2) reaktywności naczyń; 3) biomarkerów (parametrów) zakrzepowych; 4) parametrów hemodynamicznych i 5) echokardiograficznych.

Celem korelacji kanonicznej było wykazanie związku między zmiennymi w poszczególnych kategoriach oraz poszczególnymi kategoriami zmiennych a eGFR. Każda z kategorii stanowiła odrębną grupę podobnych czynników. W każdej kategorii oceniano związek z poszczególnymi zmiennymi a zmienną zależną (eGFR) i oceniono współliniowość porównywanych zmiennych. Punkt odcięcia dla uznania istotności korelacji każdej zmiennej został ustanowiony na poziomie $p<0,15$.

Modele regresji wielu zmiennych były tworzone na podstawie regresji krokowej. Wszystkie hipotezy były testowane dwustronnie z błędem typu I < 0,05 (regresja wielu zmiennych: 0,15). Wszystkie analizy statystyczne były przeprowadzone przy użyciu programu statystycznego: SAS, Version 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

5. Wyniki:

5.1 Charakterystyka badanych grup

W badaniu uczestniczyło 36 chorych z HF (grupa badana) oraz 19 ochotników (grupa kontrolna) (Tabela 2.) Obie grupy nie różniły się istotnie statystycznie pod względem zmiennych demograficznych takich jak wiek i płeć. Mężczyźni stanowili większość badanej próby, ponad 80% w grupie z HF, a mediana wieku pacjentów wynosiła 52 lata. Ciśnienie tętnicze było wyższe w grupie kontrolnej, ale kwartyl górny zawarty był w granicach wartości prawidłowych. Natomiast częstość rytmu serca była jednakowa w obu grupach (różnica nieistotna statystycznie), kwartyl górny nie przekraczał 70/min. Pośród pacjentów z HF dominującą etiologią upośledzonej funkcji skurczowej była etiologia inna niż niedokrwienna, która stanowiła ponad połowę tej populacji. Zaawansowaną HF (III i IV klasa wg NYHA) prezentowała połowa badanej populacji chorych z HF.

5.1.1 Choroby współistniejące

Spośród ocenianych chorób współistniejących u pacjentów, najczęściej występowały: hiperlipidemia (52,8%), przewlekłe zespoły wieńcowe (44,4%), hiperurykemia (30,6%), niewydolność nerek (eGFR <60ml/min/1,73m^2) (30,6%),

cukrzyca (25%), nadciśnienie tętnicze (13,9%) oraz przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP) (8,3%). Choroby współistniejące były weryfikowane na podstawie rozpoznań dostępnych w dokumentacji medycznej pacjentów z poprzednich hospitalizacji. W grupie kontrolnej 42,1% badanych miało nadciśnienie tętnicze, poza tym nie stwierdzano żadnych innych istotnych chorób współistniejących.

5.1.2 Farmakoterapia badanej populacji

Chorzy z HF w większości przypadków otrzymywali optymalną farmakoterapię (ocenianą na podstawie wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego z 2016 r.), 94,4% (n=34) pacjentów było leczonych przy zastosowaniu beta-blokerów, 89% (n=32) chorych stosowało ACEI, 91,7% (n=33) antagonistów aldosteronu (MRA), a 89% (n=32) przyjmowało diuretyki pętlowe. Żadna osoba nie stosowała sakubitrylu/walsartanu, sildenafilu ani nie była leczona przeciwzakrzepowo. Wszyscy pacjenci z etiologią niedokrwienną HF (n=15) otrzymywali kwas acetylosalicylowy w dawce 75mg.

5.1.3 Badania laboratoryjne

Jak przedstawiono w Tabeli nr 3 spośród parametrów morfologii krwi: liczba czerwonych krwinek, stężenie hemoglobiny oraz hematokryt były niższe w grupie pacjentów z HF, ale mieściły się w zakresie wartości referencyjnych. Z kolei wskaźniki zmienności krwinek czerwonych były wyższe w grupie z HF. Z badań biochemicznych wykazano wyższe stężenie kreatyniny (przy odpowiednio niższym przesączaniu kłębuszkowym wyrażonym eGFR) w grupie chorych z HF. Wartości Międzynarodowego Współczynnika Znormalizowanego (INR) były wyższe w grupie pacjentów z HF, jednak mieściły się w zakresie normy. Natomiast pozostałe parametry funkcji wątroby mieściły

się w zakresie wartości referencyjnych i nie występowały istotne różnice pomiędzy obiema grupami. Stężenia NT-proBNP były istotnie podwyższone w grupie z HF, podczas gdy w grupie kontrolnej mieściły się w normie.

Tabela 2. Charakterystyka badanych grup.

		Grupa z HF N=36	**Grupa kontrolna N=19**	***p***
Wiek [lata]		**52** [41-63]	**55** [45,5-58,5]	0,91
Płeć męska n(%)		**30** (83,3%)	**15** (78,9%)	0,72
Czas trwania HF [lata]		**5,5** [1.0 – 10.0]	-	-
Etiologia HF inna niż niedokrwienna, n(%)		**21** (58,3%)	-	-
Cukrzyca		**9** (25%)	**0** (0%)	**0,02**
NT		**5** (13,9%)	**8** (42,1%)	**0,02**
Klasa NYHA n(%)	I	-	-	-
	II	**17** (47,2%)	-	-
	III	**17** (47,2%)	-	-
	IV	**2** (5,6%)	-	-
BMI [kg/m^2]		**26,7** [24,5-28,8]	**26,3** [23,4-27,9]	0,35
SBP [mmHg]		**108** [102,5-118,3]	**123,7** [116,1-131,2]	**<0,001**
DBP [mmHg]		**62,7** [60,0-68,5]	**74,5** [67,5-76,9]	**<0,001**
HR [n/min]		**60,0** [56,7-68,0]	**65,7** [62,0-69,7]	0,28

Zmienne ciągłe przedstawiono jako medianę z dolnym i górnym kwartylem

Istotność statystyczną dla zmiennych ciągłych badano testem T-studenta

Skróty: BMI – wskaźnik masy ciała, DBP – ciśnienie tętnicze rozkurczowe; HR – częstość rytmu serca; SBP – ciśnienie tętnicze skurczowe.

Tabela 3. Badania laboratoryjne

	Grupa z HF N=36	**Grupa kontrolna N=19**	***p***
eGFR [ml/min/1,73 m²]	**70,3** [54,9-85,3]	**82,9** [78,2-90]	**0,004**
Kreatynina [mg/dl]	**1,10** [1,0-1,4]	**1,00** [0,9-1,0]	**0,005***
Erytrocyty [10^6/ul]	**4,71** [4,4-4,9]	**5,12** [5,0-5,3]	**<0,001**
Hemoglobina [g/dl]	**14,4** [13,4-14,9]	**15,7** [15,1-16,2]	**<0,001**
Hematokryt [%]	**43,05** [40,2-45,4]	**46,2** [44,4-47,9]	**<0,001**
INR	**1,07** [1,0-1,1]	**0,98** [0,97-1,0]	**<0,001**
Leukocyty [K/ul]	**7,36** [5,8-8,4]	**6,3** [5,4-7,1]	0,15
Płytki krwi [K/ul]	**199,5** [160,5-231]	**217** [181-256]	0,2
RDW-SD [fL]	**46,1** [43,9-50,1]	**43,4** [41,7-45,2]	**<0,001**
RDW-CV [%]	**14,3** [13,3-15,5]	**13,3** [13,1-13,8]	**<0,001**
NT-proBNP [pg/ml]	**1533,5** [607,8-2978]	**42,9** [19,0-68,0]	**<0,001***
ALT [IU/l]	**25** [18-43]	**25** [21-34]	0,81*
Bilirubina całkowita [mg/dl]	**0,73** [0,53-0,98]	**0,65** [0,47-0,79]	0,18*

Zmienne przedstawiono jako medianę z dolnym i górnym kwartylem

Istotność statystyczną dla zmiennych ciągłych o rozkładach normalnych badano testem T-studenta, dla zmiennych o rozkładach skośnych zastosowano nieparametryczny test M-W (*)

Skróty: INR – Międzynarodowy Współczynnik Znormalizowany, RDW-CV – rozpiętość rozkładu wielkości erytrocytów, RDW-SD – współczynnik zmienności rozkładu objętości erytrocytów.

5.1.4 Badanie echokardiograficzne i reaktywność naczyń

W badaniu echokardiograficznym (Tabela 4) w grupie pacjentów z HF wykazano poszerzone jamy obu komór serca z istotnie obniżoną ich funkcją skurczową wyrażoną zarówno frakcją wyrzucania lewej komory jak i zmianą powierzchni prawej komory, TAPSE oraz parametrami z dopplera tkankowego: prędkości skurczowej pierścienia mitralnego [LV S'] i trójdzielnego [TV S']. Wszystkie ocenione parametry różniły się istotnie w porównaniu do grupy kontrolnej, w której były one prawidłowe.

W testach oceniających reaktywność naczyń, obie grupy prezentowały podobną zależną od śródbłonka reaktywność naczyń ocenianą w FMD, a także nie różniły się istotnie pod względem elastyczności małych naczyń ocenianej w PWA. W analizie fali tętna udokumentowano, że reaktywność dużych naczyń była wyższa w grupie badanej, w porównaniu do grupy kontrolnej. Czas wyrzutu krwi z lewej komory był istotnie dłuższy w grupie kontrolnej. Stężenie asymetrycznej dimetyloargininy [ADMA], markera uszkodzenia śródbłonka, było istotnie wyższe w grupie z HF w porównaniu do grupy kontrolnej.

Tabela 4. Echokardiografia i testy reaktywności naczyniowej

	Grupa z HF	Grupa kontrolna	*p*
LVEDD [mm]	**68** [64,5-74,5]	**46** [41-47]	**<0,001**
EF biplane [%]	**22** [18,5-27]	**66** [63,2-70]	**<0,001**
LV S'[cm/s]	**4,5** [3,25-5,5]	**8,5** [7,5-9,9]	**<0,001**
RVIT [mm]	**38,5** [32,5-46,5]	**33** [32-34,7]	**<0,001**
FAC [%]	**32,2** [22,2-39]	**42,6** [37,1-52,5]	**<0,001**
TV S' [cm/s]	**9** [7-11]	**13** [10,5-14]	**<0,001**
TAPSE [mm]	**17** [14-20]	**22** [20-24.7]	**<0,001**
VTI LVOT [cm]	**10,8** [9,5-12]	**18,8** [16,8-20,3]	**<0,001**
ADMA [µmol/l]	**1,13** [0,86-1,4]	**0,59** [0,5-0,7]	**<0,001**
FMD [%]	**5,0** [0,05-8,5]	**4,6** [2,3-6,7]	0,75
HR [n/min]	**60** [56,7-68]	**65,7** [62-69,7]	0,28
CO [l/min]	**5,2** [4,7-5,7]	**5,3** [4,98-5,7]	0,18
CET [ms]	**297,6** [285,2-311,2]	**318** [303,9-330,6]	**0,03**
LAEI [ml/mmHg x10]	**18,9** [15,6-23]	**13,9** [12,1-17,6]	**0,003**
SAEI [ml/mmHg x 100]	**5,5** [3,7-7,1]	**6,4** [4,1-9,1]	0,09

Zmienne przedstawiono jako medianę z dolnym i górnym kwartylem

Wszystkie parametry zostały zweryfikowane testem T-studenta dla zmiennych parametrycznych

Skróty: ADMA – asymetryczna dimetyloarginina; CET – czas wyrzutu krwi z lewej komory; CO – rzut minutowy sera (ocena pośrednia z badania PWA); EF biplane – frakcja wyrzutowa lewej komory mierzona metodą Simpsona; FAC – zmiana pola powierzchni prawej komory; FMD – zmiana śr. tętnicy w odpowiedzi na przekrwienie bierne; HR – częstość rytmu serca; LAEi – reaktywność dużych naczyń; LVEDD – wymiar końcoworozkurczowy lewej komory; LV S' – prędkość skurczowa pierścienia mitralnego; RVIT – końcoworozkurczowy wymiar drogi napływu prawej komory; TAPSE – wychylenie skurczowe pierścienia trójdzielnego; TV S' – prędkość skurczowa pierścienia trójdzielnego; SAEi – reaktywność małych naczyń; VTI LVOT – całka prędkości przepływu w drodze odpływu lewej komory w czasie.

5.1.5 Biomarkery zakrzepowe

Spośród badanych biomarkerów zwiększonej aktywności zakrzepowej (Tabela 5), stężenie czynnika von Willenbranda [vWF] było podwyższone w grupie pacjentów z HF. Natomiast stężenie odszczepionych fragmentów protrombiny [F1+F2] było istotnie wyższe w grupie kontrolnej. Dodatkowo stężenie sTM wykazywało tendencję do wyższych wartości w grupie z HF (p=0,07). Co więcej, spośród czynników o działaniu antyzakrzepowym jedynie aktywność białka C była istotnie obniżona w grupie z HF, w stosunku do grupy zdrowych pacjentów. W przypadku stężeń pozostałych czynników takich jak: TAT, PAI-1, tPA nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami.

Tabela 5. Biomarkery zakrzepowe

	Grupa z HF	**Grupa kontrolna**	***p***
sTM [ng/ml]	**12,0** [9,3-16,9]	**11,2** [8,7-12,8]	0,07
TAT [ng/l]	**0,73** [0,20 – 3,68]	**0,74** [0,34 – 3,64]	0,94*
F1 + F2 [nmol/l]	**5,1** [3,4-9,5]	**11,2** [8,3-11,9]	**<0,001**
PAI-1 [ng/ml]	**43,5** [30,97-50,5]	**45,0** [41,8-49,3]	0,2
vWF [mU/ml]	**1004,6** [786,9-1242,3]	**500,5** [373,6-605,6]	**<0,001**
Białko C [% aktywności]	**103** [92-119,5]	**121** [98,7-129,5]	**0,04**
tPA [U/l]	**23,8** [15,7 – 32,0]	**20,2** [14,2 – 22,1]	0,19*

Zmienne przedstawiono jako medianę z dolnym i górnym kwartylem

Istotność statystyczną dla zmiennych ciągłych o rozkładzie normalnym badano testem T-studenta, dla zmiennych o rozkładach skośnych zastosowano nieparametryczny test M-W (*)

Skróty: F1 +F2 – odszczepione fragmenty protrombiny; PAI-1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, sTM – rozpuszczalna trombomodulina, TAT – kompleksy trombina-antytrombina III, tPA – tkankowy aktywator plazminogenu, vWF – czynnik von Willenbranda.

5.2 Charakterystyka grupy chorych w zależności od etiologii HF

5.2.1 Ogólna charakterystyka, badania laboratoryjne oraz parametry echokardiograficzne i reaktywność naczyń

Grupy różniły się jedynie wiekiem, który był wyższy w grupie pacjentów z etiologią niedokrwienną, a także czasem trwania HF, który był krótszy w grupie chorych z etiologią inną niż niedokrwienna. Poza tym charakterystyka populacji w zależności od etiologii HF była porównywalna w obu grupach (Tabela 6).

Również pod względem ocenianych badań laboratoryjnych nie wykazano istotnych różnic w zależności od etiologii (Tabela 7).

W obrębie parametrów echokardiograficznych (Tabela 8) zwracał uwagę istotnie większy wymiar końcoworozkurczowy lewej komory, a mniejszy końcoworozkurczowy wymiar drogi napływu prawej komory [RVIT] w grupie o etiologii innej niż niedokrwienna w stosunku do etiologii pozawałowej. Kurczliwość prawej komory była istotnie niższa w grupie pacjentów o etiologii niedokrwiennej w porównaniu do grupy o etiologii innej niż niedokrwienna. Grupy nie różniły się istotnie reaktywnością naczyniową, z wyjątkiem czasu wyrzutu krwi z lewej komory, dla którego uzyskano istotność statystyczną, ale bez istotności klinicznej.

Tabela 6. Charakterystyka chorych z niewydolnością serca w zależności od etiologii HF

		Etiologia niedokrwienna N=15	Etiologia inna niż niedokrwienna N=21	*p*
Wiek [lata]		**62** [55,2-66,4]	**42** [34,9-53]	**<0,001**
Czas trwania HF [lata]		**10** [4 – 20]	**3,0** [1,0 – 6,0]	**0,01***
Płeć męska n(%)		**14** (93,3%)	**16** (76,2%)	0,17
Klasa NYHA n(%)	I	-	-	0,79
	II	**6** (40%)	**11** (52,4%)	
	III	**8** (53,3%)	**9** (42,9%)	
	IV	**1** (6,7%)	**1** (4,7%)	
BMI [kg/m^2]		**27,6** [26,1-29,4]	**25,3** [24,2-28,0]	0,07
SBP [mmHg]		**106,2** [98,6-118,6]	**109,7** [103,4-115,9]	0,74
DBP [mmHg]		**62,7** [58,2-69,6]	**62,7** [61,2-68,6]	0,8
HR [n/min]		**60** [57,3-63,6]	**61,7** [56-69,5]	0,16

Zmienne ciągłe przedstawiono jako medianę z dolnym i górnym kwartylem

Istotność statystyczną dla zmiennych ciągłych o rozkładzie normalnym badano testem T-studenta, dla zmiennych o rozkładach skośnych zastosowano nieparametryczny test M-W (*)

Skróty: BMI – wskaźnik masy ciała, DBP – ciśnienie tętnicze rozkurczowe, HR – częstość rytmu serca, SBP – ciśnienie tętnicze skurczowe.

Tabela 7. Badania laboratoryjne w zależności od etiologii HF

	Etiologia niedokrwienna N=15	**Etiologia inna niż niedokrwienna N=21**	***p***
eGFR [ml/min/1,73m^2]	**63,9** [43,2-78,1]	**74,8** [59,4-88,2]	0,06
Kreatynina [mg/dl]	**1,2** [0,9 -1,7]	**1,10** [1-1,2]	0,16*
Erytrocyty [10^6/ul]	**4,6** [4,4-4,8]	**4,8** [4,4-5,02]	0,13
Hemoglobina [g/dl]	**14,4** [13,6-14,8]	**14,1** [13,2-15]	0,76
Hematokryt [%]	**43,5** [40,6-45,3]	**42,9** [40,2-45,7]	0,96
INR	**1,09** [1,05-1,14]	**1,06** [0,998-1,13]	0,49
Leukocyty [K/ul]	**7,9** [6,3-8,6]	**6,8** [5,4-8]	0,14
Płytki krwi [K/ul]	**198** [146-210,7]	**203** [264,5-232,7]	0,24
RDW-SD [fL]	**47,2** [45,8-51,6]	**45,7** [42,8-48,1]	0,3
RDW-CV [%]	**13,9** [13,6-15,3]	**14,3** [12,9-15,8]	0,95
NT-proBNP [pg/ml]	**1767** [591 – 5170]	**1068** [608 – 2978]	0,55*
ALT [IU/l]	**25,5** [21,0-40,0]	**25,0** [18,0 – 44,0]	0,97*
Bilirubina całkowita [mg/dl]	**0,89** [0,56 – 0,99]	**0,73** [0,50-0,88]	0,48*

Zmienne przedstawiono jako medianę z kwartylem dolnym i górnym

Istotność statystyczną dla zmiennych ciągłych o rozkładzie normalnym badano testem T-studenta, dla zmiennych o rozkładach skośnych zastosowano nieparametryczny test M-W (*)

Skróty: ALT – aminotransferaza alaninowa, INR – Międzynarodowy Współczynnik Znormalizowany, RDW-CV – rozpiętość rozkładu wielkości erytrocytów, RDW-SD – współczynnik zmienności rozkładu objętości erytrocytów.

Tabela 8. Parametry echokardiograficzne i testy reaktywności naczyniowej w zależności od etiologii HF

	Etiologia niedokrwienna N=15	**Etiologia inna niż niedokrwienna N=21**	***p***
LVEDD [mm]	**67** [64-70,7]	**73** [65,7-76,2]	**0,04**
EF [%]	**21** [19-24,7]	**25** [17,5-29]	0,28
LVs' [cm/s]	**4** [3-5,2]	**4,5** [3,9-5,5]	0,16
RVIT [mm]	**42** [38-46,7]	**35** [31-44,2]	**0,04**
FAC [%]	**26,1** [16,5-36,7]	**34,9** [27,5-43,8]	**0,04**
TV S' [cm/s]	**9** [6,2-11]	**10** [7-11]	0,58
TAPSE [mm]	**18** [15,2-20,7]	**16** [14-19]	0,25
VTI LVOT [cm]	**11,5** [10,4-13,2]	**10,2** [9,1-11,6]	0,47
ADMA	**1,1** [0,96-1,4]	**1,01** [0,8-1,2]	0,14
FMD [%]	**2,8** [0,09-6,4]	**6,1** [0,07-9,7]	0,26
HR [n/min]	**60** [57,3-63,6]	**61,7** [56-69,5]	0,16
CO [l/min]	**4,9** [4,5-5,5]	**5,3** [4,8-5,7]	0,40
CET [ms]	**299,5** [291,1-329,3]	**296,5** [282,7-303,1]	**0,05**
LAEi [ml/mmHg x10]	**19,02** [15,9-24,2]	**18,8** [15,6-21,3]	0,52
SAEI [ml/mmHg x10]	**4,6** [3,6-6,1]	**6,1** [4,5-7,3]	0,18

Zmienne przedstawiono jako medianę z kwartylem dolnym i górnym

Wszystkie zmienne zostały zweryfikowane testem T-studenta

Skróty: ADMA – asymetryczna dimetyloarginina; CET – czas wyrzutu krwi z lewej komory; CO – rzut minutowy sera (ocena pośrednia z badania PWA); EF biplane – frakcja wyrzutowa lewej komory mierzona metodą Simpsona; FAC – zmiana pola powierzchni prawej komory; FMD – zmiana śr. tętnicy w odpowiedzi na przekrwienie bierne; HR – częstość rytmu serca; LAEi – reaktywność dużych naczyń; LVEDD – wymiar końcoworozkurczowy lewej komory; LV S' – prędkość skurczowa pierścienia mitralnego (uśredniona wartość dla przegrody i ściany bocznej); RVIT – końcoworozkurczowy wymiar drogi napływu prawej komory; TAPSE – wychylenie skurczowe pierścienia trójdzielnego; TV S' – prędkość skurczowa pierścienia trójdzielnego; SAEi – reaktywność małych naczyń; VTI LVOT – całka prędkości przepływu w drodze odpływu lewej komory w czasie.

5.2.2 Biomarkery zakrzepowe w zależności od etiologii HF

Porównując biomarkery zakrzepowe w zależności od etiologii HF (Tabela 9) (etiologia niedokrwienna vs etiologia inna niż niedokrwienna), stwierdzono jedynie wyższą aktywność białka C oraz wyższe stężenie TAT w grupie o etiologii innej niż niedokrwienna. Nie wykazano różnic istotnych statystycznie pomiędzy stężeniami pozostałych biomarkerów w obrębie badanych grup.

Tabela 9. Biomarkery zakrzepowe w zależności od etiologii HF

	Etiologia niedokrwienna	**Etiologia inna niż niedokrwienna**	***p***
Białko C [% aktywności]	**95** [85-110,2]	**112** [94-125,7]	**0,007**
sTM [ng/ml]	**12,6** [10,7 -18,5]	**10,2** [9,3 – 13,3]	0,26*
F1 +F2 [nmol/l]	**4,9** [3,5-10,1]	**5,2** [3,4-9,4]	0,98
PAI-1 [ng/ml]	**41,3** [27,1-50,6]	**45,3** [36,1 – 50,4]	0,62*
tPA [U/l]	**23,8** [16,6 – 32,4]	**23,8** [15,5 – 31,5]	0,49*
vWF [mU/ml]	**1046,5** [840,8-1282]	**962,7** [751,7-1159,1]	0,49
TAT [ng/l]	**0,24** [0,20 – 2,22]	**2,64** [0,54 -4,51]	**0,04***

Zmienne przedstawiono jako medianę z górnym i dolnym kwartylem

Istotność statystyczną dla zmiennych ciągłych o rozkładzie normalnym badano testem T-studenta, dla zmiennych o rozkładach skośnych zastosowano nieparametryczny test M-W (*)

Skróty: F1 +F2 – odszczepione fragmenty protrombiny; PAI-1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, sTM – rozpuszczalna trombomodulina, TAT – kompleksy trombina-antytrombina III, tPA – tkankowy aktywator plazminogenu, vWF – czynnik von Willenbranda.

5.3 Analiza korelacji biomarkerów zakrzepowych w grupie badanej

W dalszej części analiz przeprowadzono korelacje biomarkerów zakrzepowych z pozostałymi parametrami w grupie pacjentów z HF.

5.3.1 Charakterystyka grupy i zmienne hemodynamiczne

W analizach wykazano, iż stężenie sTM było istotnie dodatnio skorelowane z wiekiem chorych (Tabela 10). Ponadto wykazano dodatnią korelację średniego ciśnienia tętniczego z PAI-1 oraz białkiem C. Pozostałe czynniki hemodynamiczne nie miały istotnego związku ze stężeniem biomarkerów zakrzepowych (Tabela 10).

Spośród parametrów oceniających reaktywność naczyń zaobserwowano, że reaktywność małych naczyń ujemnie koreluje z vWF oraz tPA (na słabym poziomie, odpowiednio: r = -0,32 i r = -0,36) (Tabela 11). Nie wykazano powiązania z reaktywnością naczyń zależną od śródbłonka ocenianą w FMD.

Tabela 10. Korelacje biomarkerów z parametrami hemodynamicznymi oraz z wiekiem.

	vWF		PAI-1		F1+F2		TAT		sTM		Białko C		tPA	
	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*
Wiek	0,21	0,22	0,14	0,42	-0,02	0,89	-0,10	0,55	0,39	**0,02**	-0,28	0,10	0,19	0,25
SBP	-0,10	0,56	0,32	0,06	0,06	0,74	0,20	0,25	-0,15	0,41	0,42	**0,01**	-0,12	0,51
DBP	0,02	0,92	0,40	**0,02**	-0,26	0,14	0,08	0,67	-0,10	0,59	0,27	0,12	0,12	0,49
MBP	0,00	0,99	0,36	**0,04**	0,02	0,89	0,17	0,34	-0,09	0,63	0,37	**0,03**	0,03	0,85
HR	-0,01	0,94	0,13	0,45	-0,14	0,44	0,22	0,20	0,02	0,90	-0,07	0,70	0,18	0,31
eCET	-0,13	0,47	-0,18	0,31	0,23	0,18	-0,09	0,60	0,23	0,19	-0,11	0,53	-0,28	0,11

Skróty: DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze, eCET – szacowany czas wyrzutu z lewej komory; F1 +F2 – odszczepione fragmenty protrombiny, HR – częstość rytmu serca, PAI -1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze, sTM – rozpuszczalna trombomodulina, TAT – kompleksy trombina-antytrombina III, tPA – tkankowy aktywator plazminogenu, vWF – czynnik von Willenbranda.

Tabela 11. Korelacje biomarkerów zakrzepowych z oceną funkcji śródbłonka.

	vWF		PAI-1		F1+F2		TAT		sTM		Białko C		tPA	
	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*
SAEI	-0,32	0,07	-0,13	0,47	0,02	0,90	0,01	0,97	-0,18	0,32	-0,05	0,78	-0,36	**0,04**
LAEI	0,10	0,58	0,07	0,67	-0,17	0,33	0,005	0,98	0,08	0,67	-0,16	0,38	0,08	0,63
FMD	-0,06	0,73	0,09	0,59	-0,20	0,23	-0,07	0,70	0,10	0,56	-0,09	0,60	0,12	0,50

Skróty: F1 +F2 – odszczepione fragmenty protrombiny, FMD – zmiana śr. tętnicy w odpowiedzi na przekrwienie bierne, LAEi – reaktywność dużych naczyń, PAI -1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, SAEi – reaktywność małych naczyń, sTM – rozpuszczalna trombomodulina, TAT – kompleksy trombina-antytrombina III, tPA – tkankowy aktywator plazminogenu, vWF – czynnik von Willenbranda.

5.3.2 Badania laboratoryjne

W Tabeli 12 przedstawiono korelacje biomarkerów zakrzepowych z badaniami laboratoryjnymi, z których warto odnotować poniższe zależności.

Czynnik vWF i sTM wykazały istotną korelację z NT-proBNP oraz ze zmiennością wielkości czerwonych krwinek. Słabą ujemną korelację obserwowano również pomiędzy vWF, a wielkością hematokrytu (r=-0,30). Spośród parametrów wątrobowych jedynie bilirubina była dodatnio skorelowana z vWF. Natomiast aminotransferaza alaninowa była ujemnie skorelowana z sTM. tPA wykazało dodatnią korelację z NT-proBNP, zmiennością wielkości czerwonych krwinek oraz bilirubiną. Hematokryt natomiast był ujemnie skorelowany z TAT.

Tabela 12. Korelacje biomarkerów zakrzepowych z badaniami laboratoryjnymi

	vWF		PAI-1		F1+F2		TAT		sTM		Białko C		tPA	
	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*
RDW_SD	0,30	0,07	-0,02	0,89	-0,18	0,29	-0,2	0,23	0,59	**<0,001**	-0,12	0,25	0,37	**0,03**
RDW_CV	0,34	**0,04**	0,02	0,92	-0,26	0,13	-0,11	0,52	0,61	**<0,001**	-0,15	0,38	0,33	**0,05**
WBC	-0,11	0,54	0,25	0,14	-0,02	0,92	-0,11	0,49	0,03	0,87	-0,22	0,19	0,26	0,13
Hct	-0,30	0,07	0,27	0,11	-0,19	0,26	-0,37	**0,03**	-0,27	0,12	0,12	**0,05**	0,15	0,39
NT-proBNP	0,39	**0,02**	-0,11	0,53	-0,02	0,93	-0,09	0,63	0,45	**0,01**	-0,017	0,33	0,34	**0,05**
ALT	-0,05	0,79	0,14	0,43	0,04	0,84	-0,09	0,60	-0,43	**0,01**	0,28	0,10	0,12	0,49
Bilirubina	0,40	**0,02**	0,33	0,07	-0,06	0,75	-0,04	0,80	0,23	0,21	-0,27	0,13	0,42	**0,02**

Skróty: ALT – aminotransferaza alaninowa, F1 +F2 – odszczepione fragmenty protrombiny, Hct – hematokryt, PAI -1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, RDW-CV – rozpiętość rozkładu wielkości erytrocytów, RDW-SD – współczynnik zmienności rozkładu objętości erytrocytów, sTM – rozpuszczalna trombomodulina, TAT – kompleksy trombina-antytrombina III, tPA – tkankowy aktywator plazminogenu, vWF – czynnik von Willenbranda, WBC – leukocyty.

5.3.3 Badanie echokardiograficzne

Korelacje biomarkerów zakrzepowych z parametrami echokardiograficznymi przedstawiono w Tabeli nr 13.

Czynnik vWF korelował z parametrami prawej komory, dodatnio z RVIT, ujemnie z TAPSE. Ponadto analiza wykazała dodatnią korelację PAI-1 z parametrami dopplera tkankowego opisującymi funkcję skurczową obu komór (LV S' i TVs'). W odniesieniu do białka C stwierdzono dodatnią, o granicznej istotności statystycznej, korelację z wielkością końcoworozkurczową lewej komory (r=0,32, p=0,06). Natomiast stężenie tPA wykazywało dodatnią korelację z RVIT.

Tabela 13. Korelacje biomarkerów zakrzepowych z parametrami echokardiograficznymi

	vWF		PAI-1		F1+F2		TAT		sTM		Białko C		tPA	
	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*	r	*p*
LVEDD	-0,16	0,36	0,03	0,86	-0,06	0,75	0,23	0,17	-0,13	0,46	0,32	0,06	0,21	0,22
EF	-0,06	0,73	0,19	0,26	-0,04	0,82	-0,20	0,25	0,04	0,80	0,05	0,75	-0,01	0,93
VTI LVOT	-0,15	0,39	0,13	0,44	-0,19	0,28	-0,10	0,57	0,06	0,72	-0,15	0,40	-0,10	0,54
LVS'	-0,06	0,71	0,37	**0,03**	-0,23	0,92	0,06	0,74	-0,25	0,14	0,03	0,88	-0,13	0,46
RVIT	0,40	**0,01**	0,03	0,84	-0,10	0,56	0,05	0,77	0,33	**0,05**	-0,21	0,22	0,38	**0,02**
FAC	-0,22	0,21	-0,02	0,90	0,07	0,67	0,002	0,99	-0,05	0,77	0,18	0,32	-0,23	0,19
TVS'	-0,28	0,10	0,35	**0,04**	-0,08	0,65	0,02	0,90	-0,01	0,94	-0,09	0,58	-0,12	0,48
TAPSE	-0,40	**0,01**	0,09	0,61	0,81	0,19	-0,15	0,39	0,14	0,44	-0,03	0,86	-0,02	0,90

Skróty: EF – frakcja wyrzutowa lewej komory, FAC – zmiana pola powierzchni prawej komory, F1 +F2 – odszczepione fragmenty protrombiny, LVEDD – wymiar końcoworozkurczowy lewej komory, LV S'- prędkość skurczowa pierścienia mitralnego (uśredniona wartość dla przegrody i ściany bocznej), PAI -1- inhibitor aktywatora plazminogenu typu-1, RVIT – końcoworozkurczowy wymiar drogi napływu prawej komory, sTM – rozpuszczalna trombomodulina, TAPSE – wychylenie skurczowe pierścienia trójdzielnego, TAT – kompleksy trombina- antytrombina III, tPA – tkankowy aktywator plazminogenu, TV S' – prędkość skurczowa pierścienia trójdzielnego, VTI LVOT – całka prędkości przepływu w drodze odpływu lewej komory w czasie, vWF – czynnik von Willenbranda.

5.4 Modele regresji liniowej wielu zmiennych

Następnie na podstawie korelacji wytypowano zmienne do regresji liniowej wielu zmiennych w celu oceny związku poszczególnych czynników z biomarkerami zakrzepowymi w grupie pacjentów z HF.

5.4.1 Analiza regresji liniowej oceniającej zależność statystyczną pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi, a zmiennymi demograficznymi i hemodynamicznymi.

Spośród parametrów działających antyzakrzepowo białko C było ujemnie związane z wiekiem a dodatnio z BMI. Spośród czynników będących markerami zwiększonej aktywności zakrzepowej, ze stężeniem sTM dodatnio związany był jedynie wiek pacjenta. Natomiast odszczepione fragmenty protrombiny były związane z wartościami ciśnienia tętniczego, a stężenie PAI-1 z BMI.

Nie udało się stworzyć modelu dla czynnika vWF, tPA oraz TAT.

Tabela 14. Wyniki analizy regresji liniowej oceniającej zależność pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi, a zmiennymi demograficznymi i hemodynamicznymi.

	Białko C [% aktywności]		**sTM [ng/ml]**		**F1+F2 [nmol/l]**		**PAI-1 [ng/ml]**	
	ß ± SE*	*p*	ß ± SE*	*p*	ß ± SE*	*p*	ß ± SE*	*p*
Wiek [lata]	-0,69 ± 0,28	**0,02**	0,01 ± 0,005	**0,02**	-	-	-	-
BMI [kg/m^2]	2,15 ± 0,88	**0,02**	-	-	-	-	108,3 ± 35,4	**0,004**
SBP [mmHg]	-	-	-	-	0,18 ± 0,07	**0,01**	-	-
DBP [mmHg]	-	-	-	-	-0,38 ± 0,12	**0,04**	-	-
Parametry modelu	R2 = 0,22 ***p* = 0,02**		R2 = 0,15 ***p* = 0,02**		R2 = 0,22 ***p* = 0,01**		R2 = 0,22 ***p* = 0,004**	

*ß ± SE – współczynnik regresji ± błąd standardowy współczynnika regresji

Skróty: BMI – wskaźnik masy ciała, DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze, F1 + F2 – odszczepione fragmenty protrombiny, PAI-1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze.

5.4.2 Analiza regresji liniowej oceniającej związek pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi a badaniami laboratoryjnymi (Tabela 15).

W modelu oceniającym związek z sTM wykazano jedynie istotną dodatnią zależność z rozpiętością rozkładu wielkości erytrocytów [RDW CV]. Dodatnimi czynnikami predykcyjnymi PAI-1 były hematokryt i bilirubina. Dodatnim czynnikiem prognostycznym dla tPA było RDW SD. Z czynnikiem vWF dodatni związek wykazywało stężenie bilirubiny całkowitej. Natomiast z TAT ujemnie związany był hematokryt. Nie utworzono istotnego modelu dla białka C oraz odszczepionych fragmentów protrombiny F1 i F2.

Tabela 15. Wyniki regresji liniowej oceniającej związek pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi a badaniami laboratoryjnymi

	sTM [ng/ml]		**PAI-1** [ng/ml]		**tPA** [U/l]		**vWF** [mU/ml]		**TAT** [ng/l]	
	ß ± SE *	*p*	ß ± SE *	*p*	ß ± SE *	*p*	ß ± SE *	*p*	ß ± SE	*p*
RDW SD [fL]	-	-	-	-	0,03±0,01	**0,03**	-	-	-	-
RDW CV [%]	1,64±0,37	**<0,001**	-	-	-	-	-	-	-	-
WBC [K/ml]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hct [%]	-	-	1,08 ± 0,47	**0,03**	-	-	-	-	-0,002 ±0,001	**0,03**
NT-proBNP [pg/ml]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ALT [IU/l]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bilirubina [mg/dl]	-	-	642±260	**0,02**	-	-	194±81,4	**0,02**	-	-
Parametry modelu	R2 = 0,37 ***p*<0,001**		R2 = 0,22 ***p* = 0,02**		R2 = 0,14 ***p* = 0,03**		R2 = 0,14 ***p* = 0,02**		R2 = 0,13 ***p* = 0,03**	

* ß ± SE – współczynnik regresji liniowej ± błąd standardowy współczynnika regresji

Skróty: ALT – aminotransferaza alaninowa, Hct – hematokryt, PAI-1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, RDW-CV – rozpiętość rozkładu wielkości erytrocytów, RDW-SD - współczynnik zmienności rozkładu objętości erytrocytów, sTM – rozpuszczalna trombomodulina, TAT – kompleksy trombina-antytrombina, tPA – tkankowy aktywator plazminogenu, WBC – leukocyty, vWF – czynnik von Willenbranda.

Niemożliwe było utworzenie istotnych modeli regresji liniowej dla biomarkerów zakrzepowych na podstawie wytypowanych parametrów reaktywności naczyń.

5.4.3 Analiza regresji liniowej oceniającej związek pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi a parametrami echokardiograficznymi.

W modelach oceniających związek parametrów echokardiograficznych wykazano, że z białkiem C dodatnio związany był wymiar końcoworozkurczowy lewej komory a ujemnie z RVIT.

Ujemnym czynnikiem predykcyjnym dla sTM był wymiar końcoworozkurczowy lewej komory, a także parametr z dopplera tkankowego charakteryzujący czynność skurczową lewej komory (LV S'). Natomiast dodatnio skorelowany z sTM był RVIT.

W modelu utworzonym dla PAI-1, wykazano jedynie dodatni związek z TV S'. tPA był dodatnio związany z wymiarem prawej komory.

Czynnik vWF był ujemnie powiązany z wielkością końcoworozkurczową lewej komory oraz TAPSE, a dodatnio z RVIT.

Niemożliwe było utworzenie modelu oceniającego związek parametrów echokardiograficznych z F1 +F2 oraz TAT.

Tabela 16. Wyniki regresji liniowej oceniającej związek pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi a parametrami echokardiograficznymi.

	Białko C [% aktywności]		**sTM** [ng/ml]		**PAI-1** [ng/ml]		**tPA** [U/l]		**vWF** [mU/ml]	
	ß±SE*	*p*	ß±SE*	*p*	ß±SE*	*p*	ß±SE*	*p*	ß±SE*	*p*
LVEDD [mm]	1,13±0,55	**0,05**	-0,025±0,01	**0,02**	-	-	-	-	-15,2±6,6	**0,03**
LVs' [cm/s]	-	-	-0,13±0,05	**0,02**	-	-	-	-	-	-
RVIT [mm]	-33±16,8	0,06	0,61±0,3	**0,05**	-	-	1,03±0,41	**0,02**	647±198	**0,003**
TV S' [cm/s]	-	-	-	-	120±55	**0,04**	-	-	-	-
TAPSE [mm]	-	-	-	-	-	-	-	-	-33,5±11,3	**0,006**
Parametry modelu	R2 = 0,17 ***p* = 0,05**		R2 = 0,34 ***p* = 0,007**		R2 = 0,12 ***p* = 0,04**		R2 = 0,17 ***p* = 0,02**		R2 = 0,43 ***p* <0,001**	

* ß ± SE – współczynnik regresji liniowej ± błąd standardowy współczynnika regresji

Skróty: LVEDD – wymiar końcoworozkurczowy lewej komory, LV S' – prędkość skurczowa pierścienia mitralnego (uśredniona wartość dla przegrody i ściany bocznej), PAI-1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, RVIT – końcoworozkurczowy wymiar drogi napływu prawej komory, sTM – rozpuszczalna trombomodulina, TAPSE – wychylenie skurczowe pierścienia trójdzielnego, tPA – tkankowy aktywator plazminogenu, TV S' – prędkość skurczowa pierścienia trójdzielnego, vWF – czynnik von Willenbranda.

5.5 Analiza regresji liniowej wielu zmiennych uwzględniająca wszystkie analizowane parametry.

Celem identyfikacji niezależnych czynników prognostycznych poszczególnych biomarkerów zakrzepowych, opracowano również modele regresji liniowej w oparciu o wszystkie analizowane parametry, wykorzystując przy tym procedurę selekcji zmiennych (Tabela 17).

W modelu oceniającym czynniki predykcyjne dla białka C wykazano, iż było dodatnio związane z wielkością końcoworozkurczową lewej komory oraz skurczowym ciśnieniem tętniczym. Natomiast stężenie sTM było dodatnio skorelowane z czasem wyrzutu lewej komory oraz RDW CV.

PAI-1 było dodatnio związane z BMI, hematokrytem, bilirubiną i funkcją skurczową prawej komory wyrażoną TV S'. Dodatnimi czynnikami predykcyjnymi dla stężenia tPA był poziom hematokrytu i wielkość prawej komory.

Czynnik vWF był ujemnie związany z płcią męską. W modelu dla vWF znalazły się także parametry echokardiograficzne. Wielkość lewej komory była ujemnym czynnikiem predykcyjnym, w przeciwieństwie do wielkości komory prawej. Czynność skurczowa prawej komory oceniana przez TAPSE była ujemnie związana ze stężeniem czynnika vWF.

Model oceniający czynniki prognostyczne dla TAT wykazał jedynie ujemny związek z hematokrytem. Na podstawie badanej próby, niemożliwe okazało się stworzenie istotnego modelu czynników predykcyjnych dla F1+F2.

Tabela 17. Modele regresji liniowej wielu zmiennych dla biomarkerów zakrzepowych na podstawie wszystkich analizowanych parametrów.

	Białko C [% aktywności]		**sTM** [ng/ml]		**PAI-1** [ng/ml]		**tPA** [U/l]		**vWF** [mU/ml]		**TAT** [ng/l]	
	ß±SE*	*p*	ß±SE*	*p*	ß±SE*	*p*	ß±SE*	*p*	ß±*	*p*	ß±SE*	*p*
Płeć męska									-229 ±119	**0,05**		
BMI [kg/m^2]					94 ± 30	**0,004**						
SBP [mmHg]	0,66 ± 0,27	**0,02**										
eCET [ms]			0,007 ± 0,002	**<0,001**								
RDW CV [%]			2,11 ± 0,32	**<0,001**								
Hematokryt [%]					1,09 ± 0,37	**0,006**	0,0006 ± 0,0003	**0,04**			-0,002 ± 0,0008	**0,03**
Bilirubina [mg/dl]					824 ± 208	**<0,001**						
LVEDD [mm]	1,07 ± 0,5	**0,04**							-14,9 ± 6,1	**0,02**		
RVIT [mm]							1,28 ± 0,4	**0,003**	670 ± 195	**0,002**		
TV S' [cm/s]					105 ± 45	**0,03**						
TAPSE [mm]									-35,2 ± 11	**0,003**		
Parametry modelu	R2 = 0,24 ***p* = 0,01**		R2 = 0,6 ***p* <0,001**		R2 = 0,55 ***p* <0,001**		R2 = 0,25 ***p* = 0,009**		R2 = 0,45 ***p* <0,001**		R2 = 0,14 ***p* = 0,03**	

* ß ± SE– współczynnik regresji ± błąd standardowy współczynnika regresji

Skróty: BMI – wskaźnik masy ciała, eCET –szacowany czas wyrzutu z lewej komory, LVEDD –wymiar końcoworozkurczowy lewej komory, PAI-1 –inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, RDW -CV- rozpiętość rozkładu wielkości erytrocytów, RVIT -końcoworozkurczowy wymiar drogi napływu prawej komory, SBP –skurczowe ciśnienie tętnicze, sTM –rozpuszczalna trombomodulina, TAPSE -wychylenie skurczowe pierścienia trójdzielnego, TAT –kompleksy trombina –antytrombina, tPA – tkankowy aktywator plazminogenu, TV S' - prędkość skurczowa pierścienia trójdzielnego, vWF – czynnik von Willenbranda.

5.6 Analiza związku badanych parametrów z funkcją nerek (Tabela 18).

Analizę oceniającą związek poszczególnych czynników z funkcją nerek, przeprowadzono dla całej badanej grupy, uwzględniając zarówno chorych z HF jak i grupę kontrolną. Podejście takie umożliwiło opracowanie pełniejszego modelu, właściwego dla szerszego zakresu zarówno zmiennych objaśniających jak i zmiennej objaśnianej (eGFR).

W dalszej części analiz po połączeniu obu grup badanej i kontrolnej przeanalizowano związek poszczególnych zmiennych z funkcją nerek ocenianą za pomocą eGFR (Tabela 18).

Spośród badań laboratoryjnych dodatnio skorelowane z eGFR były: liczba erytrocytów, hemoglobina, płytki krwi i ALT, podczas gdy RDW-CV, RDW-SD, INR i NT-proBNP były ujemnie związane z funkcją nerek. Z wykonanej analizy wynika, że wszystkie parametry echokardiograficzne będące markerami remodelingu oraz opisujące upośledzoną funkcję hemodynamiczną lewej i prawej komory wykazywały ujemną korelację z funkcją nerek. Natomiast testy oceniające reaktywność naczyniową dowiodły, iż dodatnia korelacja z eGFR istniała tylko w odniesieniu do wskaźnika elastyczności małych naczyń, markera funkcji śródbłonka. Dodatkowo ciśnienie tętnicze było także dodatnio skorelowane z przesączaniem kłębuszkowym. Ujemną korelację z eGFR wykazano dla niektórych biochemicznych markerów stanu zakrzepowego i funkcji śródbłonka takich jak: sTM, vWF i ADMA.

Tabela 18. Współczynniki korelacji z logarytmem eGFR.

Zmienna	Współczynnik korelacji	*p*
Wiek [lata]	-0,44	**<0,001**
BMI [kg/m^2]	0,07	0,62
Badania laboratoryjne		
Kreatynina* [mg/dl]	0,82	**<0,001**
Erytrocyty [10^6/ml]	0,38	**0,01**
Hemoglobina [g/dl]	0,46	**<0,001**
Hematokryt [%]	0,36	**0,01**
INR	-0,37	**0,01**
Leukocyty [K/ul]	-0,08	0,59
Płytki [K/ul]	0,38	**0,004**
RDW-SD [fL]	-0,40	**0,003**
RDW-CV [%]	-0,39	**0,004**
NT-proBNP (log) [pg/ml]	-0,53	**<0,001**
ALT (log) [IU/l]	0,30	**0,03**
Bilirubina całkowita (log) [mg/dl]	-0,21	0,15
Echokardiografia		
LVEDD [mm]	-0,20	0,15
EF biplane [%]	0,30	**0,03**
LV S' [cm/s]	0,41	**0,002**
RVIT [mm]	-0,40	**0,003**
FAC [%]	0,27	**0,05**

TV S' [cm/s]	0,09	0,53
TAPSE [mm]	0,06	0,68
VTI LVOT [cm]	0,24	0,08
Reaktywność naczyń		
ADMA [µmol/l]	-0,04	**0,002**
FMD [%]	0,07	0,59
LAEI [ml/mmHg x10]	-0,23	0,1
SAEI [ml/mmHg x 100]	0,28	**0,05**
Parametry hemodynamiczne		
SBP [mmHg]	0,30	**0,03**
DBP [mmHg]	0,34	**0,01**
CO [l/min]	0,24	0,08
CET [ms]	-0,23	0,1
SV [ml]	0,13	0,37
HR [n/min]	0,10	0,5
Biomarkery zakrzepowe		
sTM [ng/ml]	-0,66	**<0,001**
TAT (log) [g/l]	0,07	0,63
F1 + F2 [fL]	0,06	0,64
PAI-1 [ng/ml]	0,15	0,27
vWF [mU/ml]	-0,41	**0,002**
Białko C [% normalnej aktywności]	0,23	0,1
tPA (log) [U/l]	-0,19	0,17

Korelacja Spearmana lub korelacja Pearsona*

Skróty: ADMA – asymetryczna dimetyloarginina; ALT – aminotransferaza alaninowa; BMI – wskaźnik masy ciała; CET – czas wyrzutu krwi z lewej komory; CO – rzut minutowy sera; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; EF – frakcja wyrzucania lewej komory oceniana metodą Simpsona; FAC – zmiana pola powierzchni prawej komory; FMD – zmiana śr. tętnicy w odpowiedzi na przekrwienie bierne; F1 +F2 – odszczepione fragmenty protrombiny; HR – częstość rytmu serca; INR – Międzynarodowy Współczynnik Znormalizowany; LAEi - reaktywność dużych naczyń; LVEDD – wymiar końcoworozkurczowy lewej komory; LV S' – prędkość skurczowa pierścienia mitralnego; PAI-1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1; RDW-CV – rozpiętość rozkładu wielkości erytrocytów; RDW-SD – wskaźnik rozkładu objętości erytrocytów; RVIT – końcoworozkurczowy wymiar drogi napływu prawej komory; SAEi – reaktywność małych naczyń; SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze; sTM – rozpuszczalna trombomodulina; SV – objętość wyrzutowa; TAPSE – wychylenie skurczowe pierścienia trójdzielnego; TAT – kompleksy trombina-antytrombina III; tPA – tkankowy aktywator plazminogenu; TV S' – prędkość skurczowa pierścienia trójdzielnego; VTI LVOT – całka prędkości przepływu w drodze odpływu lewej komory w czasie; vWF – czynnik von Willenbranda.

5.6.1 Korelacja czynników podzielonych na kategorie z eGFR.

W dalszej części analiz wszystkie zmienne podzielono na 5 indeksów/kategorii w celu oszacowania potencjalnego związku danej grupy czynników z eGFR (Tabela 19). Wyodrębniono 5 indeksów/kategorii czynników: 1) echokardiograficzne, 2) biomarkery zakrzepowe, 3) badania laboratoryjne 4) parametry hemodynamiczne, 5) parametry reaktywności naczyniowej. W każdej z kategorii wytypowano, za pomocą korelacji kanonicznej, grupę czynników najsilniej powiązanych z eGFR. Wykazano, że każda z utworzonych kategorii (indeksów) była istotnie związana z funkcją nerek. Indeks biomarkerów zakrzepowych był kategorią zmiennych, która miała najsilniejszy związek z eGFR (współczynnik korelacji = 0,7 $p<0,0001$). W jego skład wchodziły takie parametry jak: sTM, vWF, białko C, tPA.

Tabela 19. Kanoniczna korelacja utworzonych kategorii z eGFR.

	Standaryzowany kanoniczny współczynnik	Współczynnik korelacji	Wilks' Lambda *p*
Badania laboratoryjne			
Hemoglobina [g/dl]	0,39	0,64	**<0,001**
Płytki [K/ul]	0,38		
NTproBNP (log) [pg/ml]	-0,37		
ALT (log) [U/l]	0,16		
INR	-0,06		
RDW SD [fL]	-0,05		
Echokardiografia			
LVEDD [mm]	1,03	0,63	**0,003**
EF biplane [%]	0,57		
LV S'	1,09		
RVIT [mm]	-0,71		
FAC [%]	-0,20		
TV S' [cm/s]	-0,22		
TAPSE [mm]	-0,34		
Reaktywność naczyń			
ADMA [µmol/l]	-0,60	0,5	**0,007**
SAEI [ml/mmHg x 100]	0,58		
LAEI [ml/mmHg x10]	-0,41		
FMD [%]	-0,07		
Parametry hemodynamiczne			
CET [ms]	-0,72	0,52	**0,004**
DBP [mmHg]	0,63		
SV [ml]	0,58		
CO [l/min]	0,27		
Biomarkery zakrzepowe			
sTM [ng/ml]	-0,81	0,70	**<0,0001**
vWF [mU/ml]	-0,26		
Białko C [% normalnej aktywności]	0,19		
tPA (log) [U/l]	-0,09		

Skróty: ADMA – asymetryczna dimetyloarginina, ALT – aminotransferaza alaninowa, CET – czas wyrzutu lewej komory, CO – rzut minutowy serca, DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze, EF – frakcja wyrzucania lewej komory, FAC – zmiana pola powierzchni prawej komory, FMD – zmiana śr. tętnicy w odpowiedzi na przekrwienie bierne, INR – Międzynarodowy Współczynnik Znormalizowany, LAEi – reaktywność dużych naczyń, LVEDD – wymiar końcoworozkurczowy lewej komory, LV S' – prędkość skurczowa pierścienia mitralnego, RDW-SD – wskaźnik rozkładu objętości erytrocytów, RVIT – końcoworozkurczowy wymiar drogi napływu prawej komory , SAEi – reaktywność małych naczyń, sTM – rozpuszczalna trombomodulina, SV – objętość wyrzutowa, TAPSE – wychylenie skurczowe pierścienia trójdzielnego, tPA – tkankowy aktywator plazminogenu, TV S' – prędkość skurczowa pierścienia trójdzielnego, vWF – czynnik von Willenbranda

5.6.2 Analiza modelu regresji liniowej czynników predykcyjnych eGFR

Następnie w celu identyfikacji niezależnych czynników powiązanych z eGFR przeprowadzono analizę jedno i wielu zmiennych, wykorzystując obok podstawowych powszechnie uznanych predyktorów, takich jak: wiek, płeć, BMI, obecność cukrzycy i nadciśnienia tętniczego, utworzone indeksy z analizy kanonicznej.

W modelu regresji liniowej wielu zmiennych wykazano, że jedynie biomarkery zakrzepowe, czynniki hemodynamiczne i echokardiograficzne (Tabela 20) są istotnie związane z funkcją nerek. Spośród wszystkich zmiennych indeks czynników oceniających stan zakrzepowy był najsilniej związany z eGFR, odpowiadał aż za 48% zmienności przesączania kłębuszkowego. Pozostałe parametry odgrywały mniejszą rolę.

Tabela 20. Regresja liniowa czynników predykcyjnych eGFR.

	Analiza jednozmienna		**Analiza wielu zmiennych**		
	Współczynnik regresji ± SE *	*p*	Współczynnik regresji ± SE	Cząstkowy współczynnik determinacji	*p*
Wiek [lata]	-0,01 (0,003)	**<0,001**	-0,005 (0,003)	0,03	0,08
Płeć męska	0,1 (0,10)	0,32			
BMI [kg/m^2]	0,006 (0,01)	0,62			
Cukrzyca	-0,41 (0,09)	**<0,001**			
Nadciśnienie tętnicze	0,12 (0,09)	0,19			
Indeks badań laboratoryjnych	0,2 (0,03)	**<0,001**			
Indeks reaktywności naczyniowej	0,13 (0,04)	**0,002**			
Indeks biomarkerów zakrzepowych	-0,21 (0,03)	**<0,001**	-0,12 (0,04)	0,48	**0,002**
Indeks parametrów hemodynamicznych	0,15 (0,04)	**<0,001**	0,08 (0,03)	0,05	**0,02**
Indeks parametrów echokardiograficznych	0,15 (0,04)	**<0,001**	0,1 (0,04)	0,10	**0,007**

Dane przedstawiono jako współczynnik regresji ± SE

*SE – błąd standardowy współczynnika regresji

Na podstawie analizy krokowej, parametry modelu wielu zmiennych: $r^2 = 0,63$, $p<0,001$

5.6.3 Czynniki predykcyjne nieprawidłowej czynności nerek (eGFR <60ml/min/1,73m2).

W kolejnym etapie analiz utworzono model regresji logistycznej wielu zmiennych w celu oceny, który z utworzonych indeksów jest czynnikiem predykcyjnym upośledzonej funkcji nerek w ujęciu binarnym (stan prawidłowy i nieprawidłowy).

W tym celu przeprowadzono stratyfikację całej populacji w zależności od stopnia dysfunkcji nerek (eGFR <60ml/min/1,73m^2). W Tabeli nr 21 przedstawiono wyniki modelu logistycznej regresji wielu zmiennych, wykazując, że spośród wszystkich analizowanych zmiennych jedynie płeć męska oraz indeks biomarkerów zakrzepowych były niezależnymi czynnikami prognostycznymi upośledzonej funkcji nerek. Końcowy model charakteryzował się dobrą predykcją ($p<0,001$) i dyskryminacją (pole powierzchni pod krzywą ROC wynosiło 0,925).

Tabela 21. Model regresji logistycznej dla nieprawidłowej funkcji nerek (eGFR <60 ml/min/1,73m^2).

	Analiza jednozmienna		**Analiza wielu zmiennych**	
Zmienna	Iloraz szans [95% CI]	*p*	Iloraz szans [95% CI]	*p*
Wiek [lata]	1,06 [1,001- 1,14]	**0,05**		
Płeć żeńska	0,25 [0,06 – 1,05]	0,06	0,08 [0,01 – 0,61]	**0,015**
BMI [kg/m^2]	0,96 [9,81 – 1,15]	0,69		
Cukrzyca	9,5 [1,95 – 46,19]	**0,005**		
Nadciśnienie tętnicze	0,45 [0,009 – 2,36]	0,35		
Indeks badań laboratoryjnych	0,15 [0,05 – 0,48]	**0,001**		
Indeks reaktywności naczyń	0,42 [0,19 – 0,9]	**0,03**		
Indeks parametrów zakrzepowych	6,88 [2,15 – 21,98]	**0,001**	8,11 [2,33 -28,29]	**0,001**
Indeks parametrów hemodynamicznych	0,39 [0,18 – 0,82]	**0,01**		
Indeks parametrów echokardiograficznych	0,19 [0,07 – 0,49]	**<0,001**		

AUC: 0,925, *p*<0,001

6. Dyskusja:

Z danych piśmiennictwa wynika, że HF jest stanem zwiększonej aktywności prozakrzepowej oraz dysfunkcji śródbłonka. Ponadto zaburzenia hemodynamiczne oraz nieprawidłowości w obrębie biomarkerów zakrzepowych prowadzą do stopniowego upośledzenia funkcji nerek. Z przeprowadzonej analizy wynika, że niezależnymi czynnikami predykcyjnymi dysfunkcji nerek (definiowanej jako eGFR <60ml/min/1,72m^2) w populacji chorych z HF są płeć męska i biomarkery zakrzepowe.

6.1 Charakterystyka populacji

6.1.1 Dane demograficzne

W badaniu Framingham Heart Study (123) udokumentowano, że ryzyko wystąpienia HF dla osób w wieku 40 lat jest porównywalne u obu płci i wynosi odpowiednio (21% dla mężczyzn i 20% dla kobiet). Jednak występują istotne różnice w epidemiologii w zależności od typu HF. W populacji chorych z HF z obniżoną frakcją wyrzucania dominują mężczyźni. Dane epidemiologiczne wykazują, że mężczyźni mają dwukrotnie większe ryzyko wystąpienia HF z obniżoną frakcją wyrzucania niż kobiety (124). W szwedzkim rejestrze (Swedish HF Registry) kobiety stanowiły 29% pacjentów z HF z obniżoną frakcją wyrzucania, są to dane zbliżone do opisywanej populacji badanej (125).

W populacji ogólnej częstość występowania HF rośnie z wiekiem od 1,4 na 1000 osobolat w populacji między 55 a 59 rokiem życiem, nawet do 47,4 na 1000 osobolat w populacji chorych powyżej 90 roku życia (126). Mediana wieku populacji badanej jest stosunkowo niska i wynosi 52 lata, ponieważ jest to specyficzna grupa pacjentów z ciężką HF, rozpatrywana jako kandydaci do transplantacji serca.

Choroby współistniejące

Choroby towarzyszące często współwystępują z HF, pogarszając rokowanie. Ich częstość występowania rośnie z wiekiem. W zależności od źródeł około 50% wszystkich pacjentów z przewlekłą HF choruje także na niewydolność nerek definiowaną jako eGFR <60ml/min/1.72m^2 (127). Częstość występowania niewydolności nerek w populacji chorych z HF jest trzykrotnie wyższa w stosunku do populacji ogólnej (127). W populacji badanej częstość występowania niewydolności nerek jest nieco niższa niż przytaczane dane i wynosi 30%. Wynika to prawdopodobnie ze stosunkowo młodej grupy pacjentów. Podobny trend widać w przypadku przewlekłej obturacyjnej choroby płuc. Z danych piśmiennictwa wynika, iż POChP współwystępuje w 18% przypadków pacjentów z HF (127). Jednak w populacji badanej ta częstość jest istotnie niższa, wynosi 8% i jest zbliżona do częstości rozpoznawania POChP w populacji ogólnej.

Z danych rejestrów wynika, że cukrzyca występuje w 25-40% przypadków chorych z HF, jednak, żadna z tych analiz nie różnicowała pacjentów na grupy chorych z HF z obniżoną i zachowaną funkcją skurczową lewej komory (128, 129). W badanej populacji cukrzyca występuje z podobną częstością (25% badanej populacji pacjentów z HF).

6.1.2 Wyniki badań laboratoryjnych

Populacja badana jest grupą pacjentów z zaawansowaną HF, także wyrażoną istotnie podwyższonym NT-probNP, z istotnie obniżoną funkcją nerek.

Pacjenci z HF prezentowali prawidłowe wartości zarówno aminotransferazy alaninowej, jak i bilirubiny. Prawidłowe stężenie bilirubiny w grupie z HF prawdopodobnie wynikało z granicznych, prawidłowych parametrów echokardiograficznych funkcji skurczowej

prawej komory, co pośrednio wskazuje, iż chorzy nie mieli nasilonego zastoju w obrębie wątroby.

Aminotransferazy wątrobowe w przeciwieństwie do bilirubiny odzwierciedlają uszkodzenie wątroby związane z martwicą hepatocytów i są uwalniane w czasie ostrej zdekompensowanej HF związanej ze wstrząsem kardiogennym z cechami małego rzutu minutowego (130). Populację badaną stanowili chorzy z przewlekłą HF, którzy w czasie włączania do badania nie byli we wstrząsie kardiogennym, stąd też ich parametry wątrobowe mieściły się w zakresie norm laboratoryjnych (130).

Istotne zmiany w parametrach czerwonokrwinkowych w grupie z HF, takich jak RDW są spójne z wynikami poprzednich analiz przeprowadzonych w podobnej populacji (131). Zaburzenia w obrębie współczynnika zmienności rozkładu wielkości erytrocytów przez wielu autorów tłumaczone są stanem zapalnym występującym w HF. Według niektórych autorów cytokiny prozapalne są odpowiedzialne za hamujący wpływ na erytropoetynę i dojrzewanie erytrocytów, prowadząc do zwiększonej ich zmienności (132). Pacjenci z HF mieli też istotnie niższe stężenie hemoglobiny w stosunku do grupy kontrolnej, co może prowadzić do uruchomienia hemodynamicznych procesów kompensacyjnych, szczególnie zmniejszenia naczyniowego oporu obwodowego oraz zwiększonej częstości rytmu serca (133). Jednak w opisywanej populacji chorych z HF częstość rytmu pacjentów była <70/min, prawdopodobnie ze względu na zastosowanie β-adrenolityków.

6.1.3 Reaktywność naczyń

Chorzy z HF w porównaniu ze zdrową populacją charakteryzują się dysfunkcją śródbłonka (134). Niemniej jednak istnieją także dowody, szczególnie w populacji

chorych o etiologii innej niż niedokrwienna, u których nie wykazano takich zaburzeń (36, 135). Może być to związane z efektem stosowanej farmakoterapii (136), ale także może być zależne od etiologii HF, wieku pacjentów, aktywności fizycznej, warunków przeprowadzanych pomiarów oraz specyficznych czynników genetycznych i epigenetycznych (135, 137).

Ocena dysfunkcji śródbłonka może być też zależna od metody, za pomocą której jest przeprowadzana. W ocenie fali tętna wykazano bowiem graniczną wartość istotności statystycznej dla elastyczności małych naczyń, które odzwierciedlają podatność w obrębie kapilar, regulowaną przez śródbłonek, niższą u chorych z HF w porównaniu do grupy kontrolnej (74). Natomiast nie wykazano różnic funkcji śródbłonka ocenianej w FMD w stosunku do grupy kontrolnej, jednak w obu grupach była ona obniżona (138). Może być to związane z występowaniem nadciśnienia tętniczego w części populacji grupy kontrolnej (42% osób).

Nie można wykluczyć też początkowego stadium uszkodzenia śródbłonka w grupie kontrolnej, jeszcze bez objawów ze strony układu sercowo-naczyniowego. Wykazano bowiem, że elastyczność małych naczyń oceniana w analizie fali tętna jest predyktorem chorób układu sercowo-naczyniowego, udaru oraz HF (139).

Wyższa elastyczność dużych naczyń w grupie z HF może wynikać z farmakoterapii stosowanej w tej grupie pacjentów. Chorzy z HF otrzymują B-blokery, ACE-I oraz antagonistów receptora mineralokortykoidowego w maksymalnie tolerowanych dawkach, co może korzystnie wpływać na sztywność dużych naczyń.

6.1.4 Echokardiografia

Chorzy z HF mieli istotnie poszerzoną jamę lewej komory. Stopień rozstrzeni lewej komory był porównywalny do populacji wszystkich chorych z HF z obniżoną frakcją wyrzucania hospitalizowanych w Narodowym Instytucie Kardiologii w latach 2014-2019 (140). Jednak w porównaniu do szwedzkiej analizy 547 chorych hospitalizowanych z powodu świeżo rozpoznanej HF (141) wymiar końcoworozkurczowy lewej komory badanej populacji był większy. Przypuszczalnie jest to skutkiem czasu trwania HF. W ostrej HF dominuje dysfunkcja skurczowa mięśnia sercowego z często prawidłową lub nieznacznie poszerzoną lewą komorą. W wyniku HF dochodzi do nasilonego przeciążenia objętościowego, zalegania krwi w komorze, co prowadzi do stopniowego powiększania się wymiaru końcoworozkurczowego lewej komory.

Badana populacja jest szczególną grupą chorych kierowanych do Kliniki Niewydolności Serca i Transplantologii Narodowego Instytutu Kardiologii głównie z powodu zaawansowanej HF, w związku z czym mediana frakcji wyrzutowej była stosunkowo niska i wynosiła 22%. Jednak była to wartość nieznacznie niższa niż kurczliwość lewej komory wszystkich pacjentów z HFrEF hospitalizowanych w latach 2014-2019 w NIK (Ośrodku o najwyższym stopniu referencyjności), i którzy charakteryzowali się EF na poziomie 25% (140).

Co ciekawe we wszystkich badanych populacjach, zarówno z przytoczonego piśmiennictwa jak i obecnej analizy, wymiar prawej komory jak i jej funkcja skurczowa wyrażona w TAPSE mieściły się w prawidłowych wartościach granicznych. Do niewydolności prawej komory w tej populacji chorych dochodzi bowiem już w bardzo zaawansowanej niewydolności lewokomorowej powikłanej stopniowo rozwijającym się nadciśnieniem płucnym, które wpływa na obciążenie następcze prawej komory (142).

6.2 Biomarkery zakrzepowe i dysfunkcji śródbłonka

HF jest zespołem klinicznym charakteryzującym się zaburzeniami w obrębie krążących składników osocza, unaczynieniu, funkcji śródbłonka oraz zwiększonym zastojem wewnątrznaczyniowym predysponującym do zakrzepicy w zarówno żylnym jak i tętniczym układzie naczyniowym (143).

M. Cugno i wsp. (34) poddali analizie chorych z zaawansowaną HF rozpatrywanych jako kandydatów do transplantacji serca w porównaniu do grupy kontrolnej bez HF. W badaniu tym potwierdzono istotne różnice statystyczne w obrębie biomarkerów zwiększonego stanu zakrzepowego, dysfunkcji śródbłonka, cytokin prozapalnych oraz molekuł adhezyjnych w stosunku do grupy kontrolnej. W grupie pacjentów z HF stwierdzono stan zwiększonej aktywności prozakrzepowej. Co więcej wyższe wartości biomarkerów zakrzepowych utrzymywały się po transplantacji serca, gdy pacjenci nie wykazywali już objawów HF, ale na niższym poziomie, z tendencją do ich normalizacji (34).

W HF w pierwszej fazie uszkodzenia śródbłonka dochodzi do jego nadmiernej aktywacji skutkującej wydzielaniem zgromadzonych substancji np. takich jak: tPA czy vWF (36, 112, 144-146). Zostało to także udowodnione w badanej populacji, ponieważ w grupie pacjentów z HF stwierdzono istotnie wyższe stężenia ADMA i czynnika vWF.

Ponadto zwiększone stężenie sTM, uznawanej za marker uszkodzenia śródbłonka, potwierdza jego nieprawidłowości w populacji badanej. Czynniki uszkadzające śródbłonek wpływają na rozszczepienie transbłonowej cząsteczki trombomoduliny, powodując, że traci ona swoje antykoagulacyjne właściwości (147). Wiele dostępnych publikacji także wykazuje zwiększone stężenie sTM w HF (34, 112).

Ponadto rozpuszczalna trombomodulina jest uznanym biomarkerem predykcyjnym uszkodzenia nerek. Lin i wsp. (148) w populacji chorych z ostrą HF wykazali istotnie wyższe stężenia sTM w grupie chorych, którzy rozwijali ostrą niewydolność nerek w przeciwieństwie do chorych, którzy nie rozwijali tego powikłania. Być może podobny mechanizm jest odpowiedzialny za progresję dysfunkcji nerek w populacji chorych z przewlekłą HF.

Wykazano także występowanie istotnie niższej aktywności białka C w grupie z HF, podobnie jak w innych doniesieniach (149). Białko C, oprócz swojego antykoagulacyjnego działania, jest multipotencjalne, redukuje także uszkodzenie w obrębie mikrokrążenia nerkowego oraz przywraca przepływ krwi w kapilarach okołocewkowych (150).

Stężenie tPA było podwyższone w grupie z HF w porównaniu do grupy kontrolnej, ale nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupami. tPA jest jednym z kluczowych elementów regulujących fibrynolizę i jest często podwyższone w populacji chorych z HF, co potwierdzają także inne analizy (34, 151).

W badanej populacji markery zakrzepicy takie jak odszczepione fragmenty protrombiny F1+F2 oraz kompleksy trombina-antytrombina nie były podwyższone w grupie z HF w porównaniu do grupy kontrolnej w przeciwieństwie do poprzednich doniesień (34, 151). Dotychczas dostępne dane sugerują wpływ innych czynników takich jak współistniejąca anemia czy ostre incydenty sercowo-naczyniowe, które mogą przejściowo zmieniać stężenie wspomnianych biomarkerów takich jak: F1+F2 i TAT we krwi (152). Ponadto fragmenty F1+F2 oraz TAT gwałtownie rosną w okresie ostrej zakrzepicy oraz w okresie okołooperacyjnym po wszczepieniu mechanicznego wspomagania lewej komory serca (LVAD), a spadają kilka dni po wszczepieniu LVAD

(153) lub po usunięciu skrzeplin (154). Trudno jest znaleźć pewne i racjonalne wyjaśnienie otrzymanych wyników aktualnej analizy, niemniej jednak nie można wykluczyć, iż w stabilnym okresie przebiegu HF, podobnie jak w populacji badanej, produkcja trombiny może być mniej wyrażona niż w ostrej, de novo HF oraz w przebiegu dekompensacji (149).

Ponadto, Chong i wsp., porównywali stopień uszkodzenia śródbłonka i biomarkery zakrzepicy w grupach z ostrą i przewlekłą HF. Pacjenci nie różnili się pod względem stężenia vWF, które w obu grupach były istotnie wyższe, jednak w grupie pacjentów z ostrą HF badacze zaobserwowali istotnie wyższe stężenia sTM w porównaniu do grupy z przewlekłą HF, co może potwierdzać hipotezę o różnych mechanizmach i stopniu dysfunkcji śródbłonka w zależności od dekompensacji HF.

6.3 Porównanie grupy badanej w zależności od etiologii HF

Pacjenci z HF w zależności od etiologii różnili się jedynie wiekiem. Wyższy wiek występował w grupie pacjentów z etiologią niedokrwienną, w porównaniu do etiologii innej niż niedokrwienna, która jest spowodowana najczęściej przez idiopatyczną kardiomiopatię rozstrzeniową, do rozpoznania której dochodzi między 20 a 60 rokiem życia (155). Interesującą obserwacją jest stwierdzenie wyższego BMI w populacji o etiologii pozawałowej, co potwierdza zależność między otyłością jako jednym z czynników ryzyka a występowaniem miażdżycy i przewlekłych zespołów wieńcowych (156).

Grupy różniły się także czasem trwania HF, istotnie krótszym w grupie o etiologii innej niż niedokrwienna. Przypuszczalnie wynika to z faktu, że kardiomiopatia rozstrzeniowa przez długi czas jest procesem utajonym, w którym to dzięki

mechanizmom kompensacyjnym dochodzi do utrzymania wystarczającego rzutu minutowego serca i chory nie prezentuje objawów HF. W chwili wystąpienia spustowego czynnika dekompensującego, np. infekcji z gorączką dochodzi do rozpoznania choroby, ale najczęściej już w fazie nasilonej rozstrzeni lewej komory. W przypadku etiologii niedokrwiennej, w momencie wystąpienia zawału wykonywane jest badanie echokardiograficzne, w którym po stwierdzeniu upośledzenia funkcji skurczowej lewej komory, wdrażane jest odpowiednie leczenie farmakologiczne, co skutkuje rozwinięciem zaawansowanej HF w dużo późniejszym okresie.

Spośród ocenianych badań laboratoryjnych grupy chorych w zależności od etiologii charakteryzowały się graniczną istotnością dla przesączania kłębuszkowego. eGFR było granicznie niższe w etiologii pozawałowej wynikało to prawdopodobnie z wyższego wieku u chorych po przebytym zawale.

Analizując wyniki badania echokardiograficznego, chorzy z HF o etiologii niedokrwiennej mieli istotnie mniejszy wymiar lewej komory. W mięśniu sercowym w wyniku zawału dochodzi do wytworzenia blizny, która jest mniej podatna na rozciąganie spowodowane przeciążeniem objętościowym, ponadto część mięśnia lewej komory nieobjęta zawałem ma zachowaną kurczliwość. Natomiast kardiomiopatia rozstrzeniowa jest procesem uogólnionym obejmującym cały mięsień.

Ponadto w grupie z HF o etiologii niedokrwiennej występowała istotnie bardziej poszerzona prawa komora z bardziej upośledzoną jej kurczliwością wyrażoną przez FAC. Być może było to spowodowane obszarem objętym niedokrwieniem. W przypadku zawału przegrody lub gdy zawałem objęty jest bezpośrednio mięsień prawej komory, dochodzi do upośledzenia także jej kurczliwości. Ponadto z obserwacji populacji chorych z Kliniki Niewydolności Serca i Transplantologii wynika, że pacjenci po przebytym zawale

ściany przedniej znacznie szybciej rozwijają nadciśnienie płucne, w porównaniu do pozostałej populacji pacjentów z niewydolnością serca, co może prowadzić do dysfunkcji prawej komory. Inne parametry echokardiograficzne były porównywalne, niezależnie od etiologii.

Spośród czynników opisujących stan zakrzepowy aktywność białka C była istotnie niższa w populacji chorych z etiologią niedokrwienną, co jest spójne z innymi doniesieniami (157). Niedobór białka C sprzyja występowaniu epizodów niedokrwienia i zawałów mięśnia sercowego i jego stężenie jest niższe u pacjentów hospitalizowanych z powodu stanów zakrzepowo-zatorowych (158-160). Związek niedoboru białka C głównie wiązano z epizodami zakrzepicy w łożysku żylnym, jednak obecnie uważa się, że jego niedobór również odpowiedzialny jest za zatory w łożysku tętniczym, m.in. w obrębie naczyń obwodowych (161, 162). Ponadto wykazano, że adekwatne stężenie oraz aktywność białka C ma korzystne, cytoprotekcyjne działanie na uszkodzenie poreperfuzyjne mięśnia sercowego (163).

Przyczyna wyższego stężenia TAT w grupie o etiologii innej niż niedokrwienna nie jest do końca jasna. Wyższe stężenia TAT są opisywane w piśmiennictwie podczas ostrych zespołów wieńcowych, jednak w późniejszym okresie ulegają normalizacji (164, 165). Można przypuszczać, że mniejsze stężenie TAT w HF może wynikać także z niskiej aktywności antytrombiny III w badanej populacji chorych z HF (166, 167), co jednak nie było oceniane w prezentowanym opracowaniu. Istnieją także przeciwstawne doniesienia, bowiem w analizie Marcucci i wsp. (168) oraz Jafri (169) nie wykazano różnic w stężeniu TAT w zależności od etiologii HF. Stąd nie można wykluczyć, że wiele innych czynników może determinować te zależności.

6.4 Czynniki predykcyjne biomarkerów zakrzepowych

6.4.1 Analiza parametrów hemodynamicznych, reaktywności naczyniowej oraz danych demograficznych

Stężenie sTM rośnie z wiekiem, jest to spowodowane stopniową degeneracją śródbłonka związaną z procesem starzenia się (75, 170).

Związek wyższych wartości ciśnienia tętniczego z większą aktywnością PAI-1 został udokumentowany szeroko w piśmiennictwie dotyczącym populacji chorych z nadciśnieniem tętniczym (171-173). Wykazano, iż poza swoim antyfibrynolitycznym działaniem PAI-1 indukuje zaburzenia związane z niekorzystnym remodelingiem naczyniowym, zwiększając tym samym naczyniowy opór obwodowy (174-176).

Dotychczas brak jest doniesień oceniających związek PAI-1 oraz wartości ciśnienia tętniczego w populacji chorych z HF. W analizie Cugno (34) wykazano wyższe wartości PAI-1 w grupie kontrolnej (bez HF), potencjalnie z wyższymi wartościami ciśnienia tętniczego.

Także aktywność białka C korelowała z wyższymi wartościami ciśnienia tętniczego. W populacji chorych z HF niskie wartości ciśnienia tętniczego mogą świadczyć o bardziej zaawansowanej chorobie, w której dochodzi m.in. do redukcji aktywności białka C skutkującej prawdopodobnie większą tendencją do powikłań zakrzepowych. Jak wynika z piśmiennictwa, śmiertelność pacjentów z HF z niższymi wartościami ciśnienia w chwili przyjęcia do szpitala jest istotnie większa (177), co może świadczyć o dużo większym stopniu zaawansowania HF i wyczerpaniu możliwości kompensacyjnych.

Otyłość jest znanym czynnikiem ryzyka zwiększonej aktywności zakrzepowej. W modelach czynników predykcyjnych dla biomarkerów zakrzepowych wykazano jej

istotny statystycznie wpływ zarówno na PAI-1 (178) jak i aktywność białka C. W piśmiennictwie podobnie jak w przeprowadzonej analizie udowodniono związek otyłości z większą aktywnością białka C (179). Postuluje się, iż jest to zjawisko wtórne do zwiększonego stanu zakrzepowego tej populacji skutkujące zwiększonym powstawaniem trombiny, która jest czynnikiem wpływającym na aktywację białka C (179).

Jak wykazano w piśmiennictwie reaktywność małych naczyń oceniana w analizie fali tętna ma związek z funkcją śródbłonka i może służyć pośrednio do ewaluacji jego funkcji (73). Zachowana elastyczność małych naczyń koreluje z niższymi stężeniami czynnika vWF, co potwierdza tezę, iż prawidłowo funkcjonujące, nieuszkodzone komórki śródbłonka, pełnią funkcję regulującą i pośrednio chronią przed skłonnością do nadmiernego wykrzepiania.

Ponadto, lepsza elastyczność małych naczyń jest ujemnie skorelowana z tPA (180). Duque i wsp. (180) przeanalizowali mechanizm uwalniania tPA w grupie pacjentów po urazach. W badaniu wykazano, że hipoperfuzja towarzysząca urazom jest czynnikiem stymulującym uwalnianie tPA z uszkodzonych komórek śródbłonka, co aktywuje fibrynolizę, chroniąc tym samym narządy przed niedokrwieniem. Prawdopodobnie taki sam mechanizm kompensacyjny występuje w grupie pacjentów z HF, mniejszy rzut oraz towarzysząca mu hipoperfuzja mogą stymulować komórki śródbłonka do uwalniania tPA. W badanej populacji w grupie chorych z HF stężenia tPA są wyższe w stosunku do grupy kontrolnej, jednak różnica nie była istotna statystycznie. Nie można wykluczyć, że wynikało to ze stosunkowo stabilnego stanu klinicznego badanej populacji.

Podobnie jak w przypadku PAI-1 w dotychczas dostępnym piśmiennictwie opisano korelację wyższych wartości ciśnienia tętniczego z wyższymi wartościami F1+F2 w populacji chorych z nadciśnieniem tętniczym (181). W obecnej analizie również wykazano taki związek, co jest trudne do jednoznacznej interpretacji w badanej populacji.

6.4.2 Analiza parametrów laboratoryjnych

Progresja HF oraz zaburzenia perfuzji związane z uszkodzeniem mięśnia sercowego jako pompy powodują stopniowe uszkodzenie śródbłonka. Narastanie stężenia peptydów natriuretycznych, będące markerem zaawansowania choroby, koreluje z podwyższonymi markerami dysfunkcji śródbłonka: czynnikiem vWF (182) oraz sTM, prowadząc tym samym do zwiększonej aktywności zakrzepowej osocza. Niemniej jednak część autorów postuluje, że hormon natriuretyczny uwalniany w zwiększonej ilości przez niewydolne serce odpowiada nie tylko za natriurezę, ale także jest hormonem wpływającym na śródbłonek, np. prowadzi do rozszerzania naczyń, indukując syntetazę tlenku azotu, a także aktywuje komórki śródbłonka (183). Nasilony proces zapalny również występujący u chorych z HF (184) prowadzi do stopniowego uszkadzania śródbłonka i upośledzenia jego funkcji, co potwierdza dodatnia korelacja zmienności wielkości czerwonych krwinek (markera zwiększonego stanu zapalnego) z markerami uszkodzenia śródbłonka jak czynnik vWF i odszczepiona sTM.

Wiele eksperymentalnych modeli wykazało wpływ zastoju krwi i przekrwienia na postępujące uszkodzenie śródbłonka. Colombo i wsp. (185) stworzyli eksperymentalny model, w którym lokalny zastój żylny był związany z istotnym wzrostem czynników prozapalnych i adhezyjnych wydzielanych przez śródbłonek. Uzyskane wyniki

wskazujące na związek bilirubiny z vWF, potwierdzają tę hipotezę. Należy jednak podkreślić, że w badanej populacji nie stwierdzono istotnie podwyższonego stężenia bilirubiny.

tPA jest substancją gromadzoną i wydzielaną przez zaktywowane komórki śródbłonka. Do aktywacji komórek śródbłonka dochodzi zarówno z powodu progresji HF, której markerem jest NT-proBNP, jak i zwiększonego procesu zapalnego, a także zastoju w łożysku naczyniowym czego pośrednim markerem jest stężenie bilirubiny, które wzrasta w czasie wzmożonego przekrwienia w obrębie wątroby (130). Potwierdziła to obecna analiza, która wykazała dodatnią zależność między tPA wydzielanym przez śródbłonek z zarówno NT-proBNP jak i bilirubiną oraz RDW-SD i RDW-CV, będącymi markerami stanu zapalnego.

6.4.3 Analiza parametrów echokardiograficznych

Również zidentyfikowanie czynników predykcyjnych biomarkerów zakrzepowych i dysfunkcji śródbłonka spośród parametrów echokardiograficznych potwierdza związek pomiędzy zaburzeniami funkcji prawej komory, prowadzącymi do przekrwienia biernego narządów, a parametrami uszkodzenia śródbłonka wyrażonymi wzrostem stężenia czynnika vWF, zwiększonego wydzielania tPA przez śródbłonek, a także indukcją uszkodzenia występującej na powierzchni komórek śródbłonka trombomoduliny, co skutkuje odszczepieniem jej rozpuszczalnego fragmentu i wzrostem jego stężenia we krwi.

Zgromadzone podczas badań dane wykazały ujemną zależność pomiędzy wielkością prawej komory a aktywnością działającego antyzakrzepowo białka C.

Tę zależność można wytłumaczyć faktem, że obniżona funkcja skurczowa prawej komory jest także wykładnikiem zaawansowania HF, bowiem do upośledzenia jej kurczliwości i poszerzenia dochodzi w momencie rozwinięcia nadciśnienia płucnego wtórnego do niewydolności lewokomorowej lub pierwotnego uszkodzenia mięśnia sercowego obu komór.

Ciekawym zjawiskiem jest kardioprotekcyjny wpływ białka C w HF. Opisano, iż białko C chroni przed przerostem komórek mięśnia sercowego indukowanym obciążeniem ciśnieniowym, a także hamuje powstawanie reaktywnych form tlenu oraz wykazuje działanie przeciwzapalne (186). W związku z tym wymiar końcoworozkurczowy lewej komory będący czynnikiem predykcyjnym aktywności białka C jest być może zjawiskiem kompensacyjnym, chroniącym przed dalszym postępującym uszkodzeniem mięśnia sercowego. Warto zauważyć, że protekcyjna funkcja białka C, jest lepiej poznana w modelach HF z zachowaną funkcją skurczową (163).

6.5 Wpływ na funkcję nerek

Niewydolność nerek i wątroby są jednymi z najbardziej znaczących powikłań narządowych w HF. Niewydolność nerek istotnie modyfikuje rokowanie i występuje aż u połowy pacjentów z HF (24, 187).

U 23% chorych z HF dochodzi do stale pogarszającej się funkcji nerek. Pogarszająca się funkcja nerek w czasie każdej, kolejnej hospitalizacji wykazuje silny związek z gorszym rokowaniem długoterminowym (24). W subanalizie badania SOLVD współwystępująca z HF niewydolność nerek istotnie pogarszała rokowanie niezależnie od frakcji wyrzutowej oraz stopnia zaawansowania HF (188).

Patofizjologia postępującej niewydolności wielonarządowej w HF jest złożona, nie tylko ściśle związana z zaburzeniami czysto hemodynamicznymi. Lepsze zrozumienie przyczyn wpływających na redukcję eGFR jest niezbędne w celu poznania nowych strategii leczniczych celem poprawy rokowania pacjentów.

Niniejsze opracowanie jest jedną z niewielu analiz oceniających w szerszym kontekście jakie czynniki, w populacji chorych z HF, mogą mieć wpływ na progresję niewydolności nerek. Prezentowane badanie wykazało, że biomarkery krzepnięcia w HF są najmocniej związane z eGFR w porównaniu z innymi analizowanymi parametrami.

Na funkcję nerek wpływają zarówno zaburzenia hemodynamiczne, neurohormonalne, zmiany w obrębie perfuzji nerkowej, dysfunkcja śródbłonka, miażdżyca, a także stres oksydacyjny (30, 189). Zarówno zmniejszony rzut jak i zwiększony zastój w obrębie łożyska żylnego, powodujący przekrwienie bierne nerek, wykazują istotny negatywny wpływ na funkcję nerek (189). Przedstawione wyniki w obecnej dysertacji również potwierdzają tę tezę, parametry echokardiograficzne oceniające funkcje lewej jak i prawej komory były istotnie związane z funkcją nerek. Ponadto NT-proBNP jest negatywnym predyktorem eGFR (190, 191).

Wiele analiz wykazuje związek zaburzeń krzepnięcia z niewydolnością nerek (192-195). Niektóre z nich podkreślają, że niewydolność nerek także prowadzi do postępującego uszkodzenia śródbłonka (194, 196).

W HF dysfunkcja śródbłonka występuje w wielu łożyskach naczyniowych, także upośledzając autoregulację w obrębie unaczynienia nerek (136, 145). W związku z uszkodzeniem śródbłonka i zwiększonym zastojem krwi, wzrasta aktywność prozakrzepowa osocza (36, 197).

Ponadto w populacji chorych z niewydolnością nerek występuje zwiększona aktywność cytokin prozapalnych, która powoduje progresję uszkodzenia nerek podobnie jak w przypadku zwiększonej aktywności prozapalnej w populacji z HF (168, 189). Jest to pośrednio potwierdzone przez związek RDW z pogorszeniem funkcji nerek (198, 199).

W wielu publikacjach, dysfunkcja śródbłonka jak i zwiększona gotowość prozakrzepowa są czynnikami, które w największym stopniu modyfikują funkcję nerek (194, 196). Stężenie ADMA jako markera dysfunkcji śródbłonka ma zastosowanie w ocenie ryzyka sercowo-naczyniowego (200). Stężenia ADMA także rośnie w niewydolności nerek, przyczyniając się do dalszego upośledzania funkcji śródbłonka, narastania stresu oksydacyjnego, a w konsekwencji do dalszej progresji niewydolności nerek (145, 201).

Wiele analiz wykazuje związek dysfunkcji śródbłonka, parametrów zapalnych oraz czynnika vWF jako markera dysfunkcji śródbłonka oraz zwiększonej gotowości zakrzepowej osocza z pogarszaniem funkcji nerek i narastaniem stężenia kreatyniny (202).

tPA jest także jednym z kluczowych elementów regulujących fibrynolizę i jego stężenie jest często podwyższone w populacji chorych z HF (151). Ponadto jego stężenie koreluje ze stężeniem kreatyniny (192). Poza tym wykazano, że wpływa na stan zapalny, mogąc odgrywać istotną rolę w różnych chorobach kłębuszków nerkowych, także pogarszając funkcję nerek w uszkodzeniu poreperfuzyjnym (195).

Innym czynnikiem o udowodnionej skuteczności w hamowaniu uszkodzenia poreperfuzyjnego nerek jest białko C. Wykazano jego skuteczność niezależnie od

działania antykoagulacyjnego, poprzez działania cytoprotekcyjne, uszczelniające barierę śródbłonkową (150).

sTM, będąca odszczepionym fragmentem, bez którego trombomodulina na powierzchni śródbłonka traci swoje antykoagulacyjne właściwości jest predyktorem uszkodzenia nerek u chorych z ostrą HF. Lin w swojej analizie postuluje, iż uszkodzony śródbłonek może promować tworzenie się mikrozakrzepowych ognisk, prowadząc do zaburzeń przepływu w obrębie mikrokrążenia oraz prowadzić do niewydolności narządowej (148).

W obecnych przeglądach piśmiennictwa, podkreślanych jest wiele czynników przyczyniających się do rozwoju zespołu sercowo-nerkowego (203). Autorzy identyfikują czynniki hemodynamiczne (zastój żylny oraz zmniejszony rzut serca), zaburzenia neurohormonalne (występujące zarówno w HF jak i niewydolności nerek), stan zapalny, stres oksydacyjny, zaburzenia metaboliczne czy współistniejącą anemię (23, 26, 39, 204). Inne doniesienia postulują dysfunkcję śródbłonka jako przyczynę pogarszającej się funkcji nerek w HF (37). Nie można pomijać wpływu wspomnianych czynników. Także w tej analizie potwierdzono związek parametrów echokardiograficznych i hemodynamicznych z funkcją nerek, jednak oprócz udowodnionych już w piśmiennictwie parametrów związanych z funkcją nerek, wykazano, że niezależnymi czynnikami predykcyjnymi dysfunkcji nerek są także biomarkery zakrzepowe. Prezentowany w przedstawionej pracy indeks biomarkerów zakrzepowych, do którego modelu weszły biomarkery o udowodnionym w piśmiennictwie związku z funkcją nerek taki jak: sTM, vWF, białko C oraz tPA był najsilniejszym czynnikiem predykcyjnym dla eGFR. W porównaniu do innych istotnych zmiennych, odpowiadał aż za 48% zmienności eGFR.

Już w 1972 r. Kincaid-Smith P. (205) zwracała uwagę na problem zaburzeń krzepnięcia w patogenezie niewydolności nerek. Co prawda nie poruszała zagadnienia zespołu sercowo-nerkowego w HF, ale podkreślała konieczność dalszych badań nad leczeniem przeciwkrzepliwym, w tym heparynami drobnocząsteczkowymi w chorobach przewlekłych wpływających na zaburzenia mikrokrążenia i pogarszających funkcję nerek takich jak nadciśnienie tętnicze.

Ciekawym zjawiskiem jest fenomen Sanareli-Schwartzman, w którym to po wstrzyknięciu endotoksyn dochodzi do tworzenia się mikrozakrzepów i rozsianego wykrzepiania, jednak blokada receptorów adrenergicznych hamuje dalszą progresję zmian (205). Klinicznym odzwierciedleniem takiego eksperymentalnego wstrząsu może być ostra niewydolność nerek z towarzyszącą martwicą cewek nerkowych, w przebiegu której stwierdzono złogi fibryny oraz wykrzepianie wewnątrznaczyniowe (205). Istnieje kilka doniesień, że wlew katecholamin może powodować wykrzepianie wewnątrznaczyniowe (206). To może sugerować, że stosowanie katecholamin może prowadzić do mikrozakrzepicy i w jej mechanizmie do pogarszania funkcji nerek oraz do zaburzeń w regulacji mikrokrążenia w obrębie tych narządów. Katecholaminy silnie obkurczają naczynia i redukują przepływ w zewnętrznej korze nerki, podtorebkowo.

Podobny mechanizm może występować u chorych z HF. Co prawda badaną grupę stanowią pacjenci z przewlekłą HF, jednak od dawna wiadomo, że w czasie dekompensacji układu krążenia dochodzi do progresji niewydolności wielonarządowej. Nerki są szczególnie wrażliwe i każda dekompensacja wpływa na upośledzenie ich funkcji, często w sposób nieodwracalny (207).

Nadmierna aktywacja adrenergiczna występująca w HF (208), nawet w okresach pozornie stabilnych, może być powikłana zaburzeniami w obrębie mikrokrążenia i mikrozakrzepicy w łożysku nerkowym.

Postuluje się, że uszkodzony śródbłonek w HF wraz z zaburzeniami w obrębie mikrokrążenia spowodowanymi wyższą aktywacją katecholaminergiczną w HF może tworzyć morfologiczną podstawę do zwiększonej zakrzepicy w łożysku nerkowym (205), co razem z zaburzeniami perfuzji może stopniowo prowadzić do pogarszania się funkcji nerek.

W ciekawym eksperymencie klinicznym Targoński i wsp. (118) wykazali, że zastosowanie heparyny drobnocząsteczkowej u pacjentów z zespołem sercowo-nerkowym powikłanym zakrzepicą odwraca oporność na diuretyki. Nie można zatem wykluczyć, że zaburzenia mikrokrążenia i ogniska mikrozatorowości są jednym z głównych mechanizmów odpowiedzialnych za progresję niewydolności nerek w populacji chorych z HF. Brak jest jednak badań potwierdzających tę hipotezę.

Być może stosowanie leczenia przeciwzakrzepowego w zaawansowanej HF (III i IV klasie NYHA) (ponad połowa pacjentów badanej populacji), w której stosunkowo często dochodzi do dekompensacji mogłoby chronić nerki przed dalszym upośledzaniem ich funkcji. Wymaga to jednak przeprowadzenia badań prospektywnych na większych grupach pacjentów.

6.6 Aspekt kliniczny stwierdzanych zaburzeń w obrębie biomarkerów zakrzepowych w populacji chorych z HF

Od wielu lat HF uznawana jest za stan o zwiększonym potencjale zakrzepowym. Marcucci i wsp. (168) wykazali, że zwiększony stan prozakrzepowy oraz zapalny w HF

oceniony poprzez stężenia D-dimerów, kompleksów trombina-antytrombina i IL-6 jest związany ze zwiększonym ryzykiem zgonu w HF. Istnieje także wiele doniesień wykazujących, że czynnościowa dysfunkcja śródbłonka jest niezależnym czynnikiem ryzyka zdarzeń niepożądanych takich jak hospitalizacje i zgony (209, 210). Heitzer i wsp. (211) wykazali z kolei, że dysfunkcja śródbłonka jest związana z progresją HF.

We wszystkich dotychczasowych metaanalizach, potencjalne korzyści leczenia antykoagulacyjnego w populacji chorych z rytmem zatokowym były zdominowane przez powikłania krwotoczne implementowanego leczenia (212).

Dane z metaanalizy oceniające stosowanie warfaryny u chorych z HF i rytmem zatokowym wykazały redukcję ryzyka wystąpienia udarów, lecz bez wpływu na śmiertelność ogólną (213). Natomiast w analizie badania SOLVD wykazano, że zastosowanie warfaryny w populacji chorych z HF było niezależnie związane z redukcją śmiertelności z każdej przyczyny oraz ryzykiem zgonu i hospitalizacji z powodu HF. Co ciekawe, na redukcję ryzyka nie wpływało współistnienie migotania przedsionków, frakcja wyrzutowa lewej komory, etiologia HF, klasa czynnościowa NYHA czy wiek pacjenta (214). Przeciwstawne wyniki uzyskano w badaniu BEST (215), w którym stwierdzono, że stosowanie warfaryny pozostawało bez wpływu na śmiertelność ogólną.

W retrospektywnej subanalizie badania SOLVD ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych w grupie pacjentów bez współistniejącego migotania przedsionków było wyższe (2,4%) u kobiet w porównaniu do mężczyzn (1,8%). Co ciekawe, niższa frakcja wyrzutowa lewej komory była związana ze wzrostem ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych jedynie u kobiet. Niższa frakcja wyrzutowa o 10% zwiększała ryzyko wystąpienia powikłań zakrzepowo-zatorowych w grupie kobiet aż o 53%. U mężczyzn nie zaobserwowano takiej zależności (216).

Należy zauważyć, że jedno z badań (COMMANDER-HF), oceniające zastosowanie doustnych antykoagulantów niebędących antagonistą witaminy K [NOAC] (niskiej dawki riwaroksabanu dwa razy na dobę w porównaniu do placebo) u chorych z HF z obniżoną frakcją wyrzucania, przewlekłym zespołem wieńcowym i rytmem zatokowym nie wykazało korzyści dla złożonego punktu końcowego jakim było wystąpienie zgonu, udaru lub zawału mięśnia sercowego (217). Jednak analiza post-hoc wykazała 32% redukcję wystąpienia udaru niedokrwiennego w grupie otrzymującej riwaroksaban, bez wpływu na ryzyko wystąpienia poważnych krwawień zagrażających życiu (218).

Natomiast w badaniu WARCEF porównującym zastosowanie warfaryny i aspiryny u pacjentów z HF z obniżoną frakcją wyrzucania i rytmem zatokowym wykazano, że redukcji udarów niedokrwiennych w grupie z warfaryną towarzyszył istotnie większy odsetek ciężkich powikłań krwotocznych zagrażających życiu (219). Jednocześnie w badaniu HELAS w podgrupie pacjentów z kardiomiopatią rozstrzeniową, w której porównywano zastosowanie warfaryny z placebo, zaobserwowano, że w populacji przyjmującej warfarynę istotnie wzrastała frakcja wyrzucania lewej komory. Większa ilość epizodów krwawień zagrażających życiu w grupie z warfaryną była nieistotna statystycznie i ewidentnie związana z nadmiernym efektem antykoagulacyjnym (220). Podobny efekt, jak w badanu HELAS został wykazany w badaniu Wojnicza, w którym oceniano wpływ zastosowania heparyny drobnocząsteczkowej w kardiomiopatii rozstrzeniowej. W grupie z heparyną wykazano istotną redukcję NT-proBNP, wymiaru poźnorozkurczowego lewej komory, a także wzrost frakcji wyrzutowej (116).

W innym badaniu Gheorghiade (221) oceniającym wpływ terapii riwaroksabanem na stężenia biomarkerów zakrzepowych w populacji chorych z HF bez współistniejącego migotania przedsionków, w grupie placebo stwierdzono istotny

wzrost fragmentów protrombiny F1+F2, D-dimerów oraz TAT wraz z czasem trwania HF. Natomiast zastosowanie riwaroksabanu istotnie obniżało stężenia fragmentów protrombiny, obserwowano także tendencję do redukcji D-dimerów i TAT, ale zmiany były nieistotne statystycznie.

Mimo, że profilaktyka heparynami drobnocząsteczkowymi jest zalecana u hospitalizowanych pacjentów z powodu ostrej HF, zalecenia co do rutynowego stosowania antykoagulacji u chorych z HF z rytmem zatokowym pozostają kontrowersyjne (1).

Należy zauważyć, że niewydolność nerek w populacji chorych z HF jest niezależnym czynnikiem ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych (222). Wszystkie dotychczas opublikowane badania były badaniami przekrojowymi lub retrospektywnymi, dlatego obecnie trudno wyciągnąć adekwatne wnioski co do zasadności i skutków wdrożenia leczenia przeciwzakrzepowego w populacji chorych z HF ze współistniejącą niewydolnością nerek. Dotychczas nie przeprowadzono randomizowanych badań w tej populacji chorych. Istotne znaczenie ma również fakt, że współistniejąca niewydolność nerek wpływa także na ryzyko powikłań krwotocznych. Opierając się na wynikach przeprowadzonych dotychczas badań, głównie danych retrospektywnych lub przekrojowych, trudno jest wyciągnąć jednoznaczne wnioski na temat związku przyczynowo-skutkowego związanego ze stanem zakrzepowym a niewydolnością nerek. Z drugiej strony nie można wykluczyć, że leczenie przeciwzakrzepowe u wybranych chorych może przyczynić się do poprawy funkcji nerek i rokowania u chorych z HF. Kwestia ta wymaga jednak dalszych badań, aby uzasadnić włączenie dodatkowych biomarkerów do szerokiej oceny pacjentów z zaawansowaną HF.

Podsumowując, na podstawie przeprowadzonych analiz można wnioskować, że zaburzenia w obrębie układu krzepnięcia i funkcji śródbłonka są jednym z bardzo istotnych czynników związanych z progresją niewydolności nerek w tej grupie pacjentów. Z teoretycznego punktu widzenia, może być to podstawą do dalszych analiz i znalezienia czynników, na podstawie których można zidentyfikować grupę chorych, która mogłaby odnieść korzyści z wdrożenia terapii antykoagulacyjnej.

7. Ograniczenia badania:

Głównym ograniczeniem badania jest mała, wyselekcjonowana grupa badana, co utrudnia uogólnienie wniosków oraz jednoznaczne określenie implikacji klinicznych na podstawie uzyskanych wyników. Ocenianie były tylko wybrane biomarkery zakrzepowe, co także stanowi ograniczenie obecnych analiz. Ponadto brakowało pełnych danych hemodynamicznych oraz nie było możliwe uwzględnienie wszystkich czynników mogących mieć istotny wpływ na funkcję nerek. Kolejnym aspektem jest przekrojowy charakter pracy, co uniemożliwia wyciąganie wniosków dotyczących związku przyczynowo-skutkowego. Niemniej jednak prezentowane wyniki stanowią ważny aspekt poznawczy, a uzyskane informacje powinny być potwierdzone w przyszłych badaniach.

8. Wnioski:

Na podstawie przeprowadzonych analiz postawiliśmy następujące wnioski:

1. Pacjenci z HF charakteryzują się aktywacją śródbłonka i wyższymi wartościami biomarkerów zakrzepowych.
2. Spośród wszystkich analizowanych parametrów to biomarkery zakrzepowe, także bezpośrednio związane z dysfunkcją śródbłonka są najsilniejszymi, niezależnymi czynnikami odpowiedzialnymi za zmienność eGFR.
3. Biomarkery zakrzepowe są niezależnymi czynnikami predykcyjnymi niewydolności nerek w badanej populacji.
4. Oznaczanie biomarkerów zakrzepowych w populacji chorych z HF może potencjalnie umożliwić identyfikację chorych zagrożonych niewydolnością nerek co wymaga potwierdzenia w badaniach prospektywnych.

9. Streszczenie

Wstęp:

Niewydolność serca [HF] jest przewlekłą, postępującą chorobą z częstością występowania do 3-4% w populacji ogólnej. Pomimo nowych możliwości terapeutycznych, chorobowość i śmiertelność HF pozostają na bardzo wysokim poziomie. Pacjenci ze schyłkową, ciężką HF wykazują roczną śmiertelność na poziomie niemal 50%.

Choroby współistniejące często komplikują przebieg HF i są uznanymi czynnikami pogarszającymi rokowanie. Niewydolność nerek jest jedną z chorób najczęściej wikłających przebieg HF, z częstością występowania nawet do około 50%.

Patofizjologia postępującej niewydolności wielonarządowej w HF jest złożona, nie tylko ściśle związana z zaburzeniami czysto hemodynamicznymi. Lepsze zrozumienie przyczyn wpływających na redukcję współczynnika przesączania kłębuszkowego [eGFR] jest niezbędne w celu poznania nowych strategii leczniczych celem poprawy rokowania pacjentów.

Obecnie postulowanych jest wiele mechanizmów, które są odpowiedzialne za pogorszenie funkcji nerek w populacji chorych z HF. Niemniej jednak, nie są znane wszystkie interakcje. Nadal poszukuje się czynników, których modyfikacja mogłaby hamować postęp niewydolności nerek a tym samym istotnie poprawiać rokowanie w tej grupie chorych.

Wiele analiz wykazuje związek zaburzeń krzepnięcia i dysfunkcji śródbłonka z niewydolnością nerek. W HF dysfunkcja śródbłonka występuje w wielu łożyskach naczyniowych, przyczyniając się m.in. do upośledzenia autoregulacji w obrębie

unaczynienia nerek. W dotychczas dostępnym piśmiennictwie nie ma analiz badających związek biomarkerów zakrzepowych z pogarszającą się funkcją nerek w populacji pacjentów z HF. W obecnej dysertacji oceniono funkcję śródbłonka oraz biomarkery zakrzepowe w populacji chorych z HF oraz przeanalizowano ich związek z upośledzoną funkcją nerek, razem z innymi parametrami mogącymi mieć wpływ na redukcję eGFR.

Cele pracy:

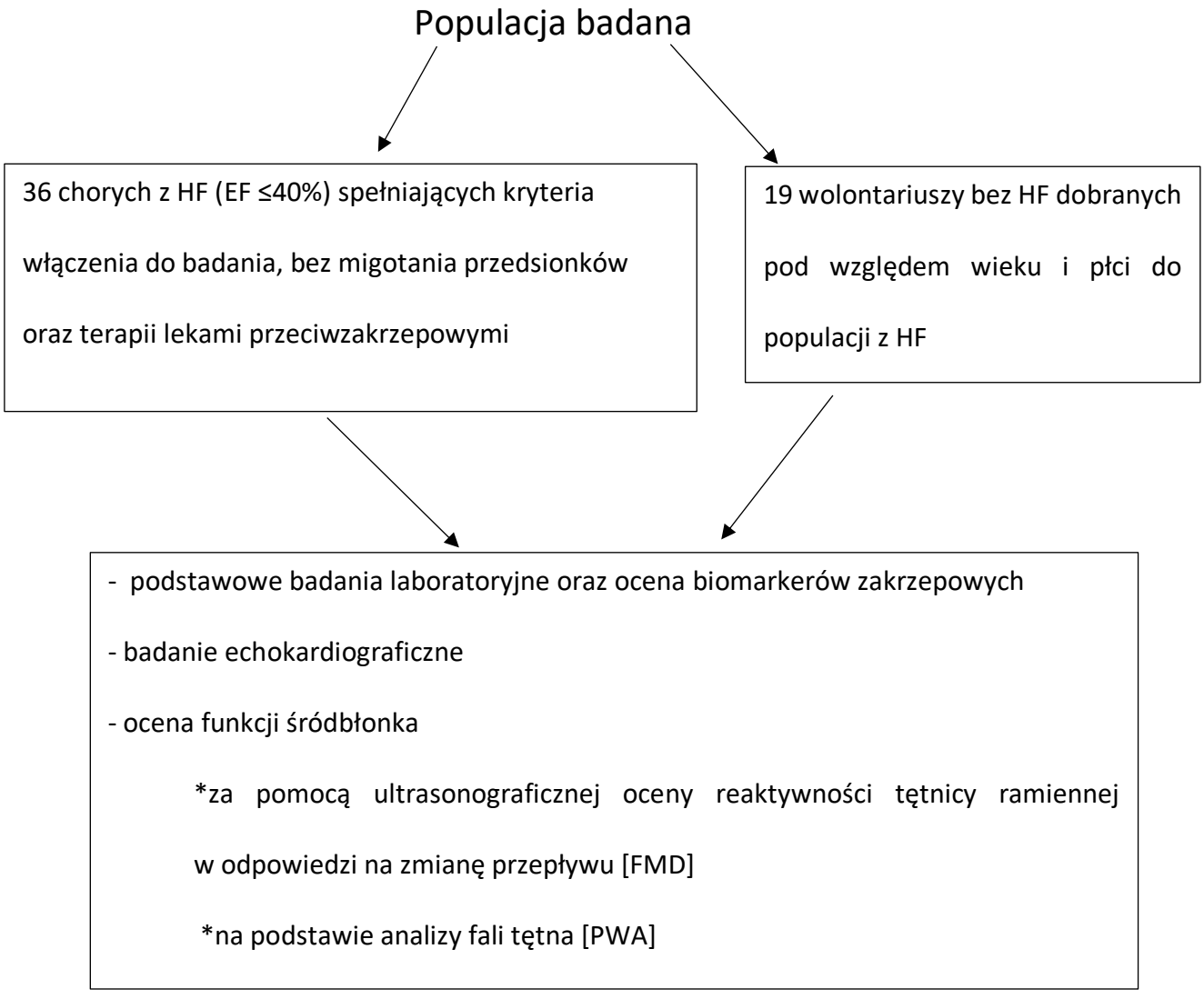
1. Ocena wybranych biomarkerów krzepnięcia i funkcji śródbłonka w populacji chorych z HF oraz ocena ich korelacji z parametrami biochemicznymi, hemodynamicznymi i echokardiograficznymi.
2. Porównanie wybranych biomarkerów zakrzepowych pomiędzy grupą badaną z HF, a grupą kontrolną bez HF.
3. Identyfikacja parametrów związanych z upośledzoną funkcją nerek w populacji chorych z HF.
4. Określenie związku pomiędzy biomarkerami układu krzepnięcia i funkcji śródbłonka a niewydolnością nerek w przebiegu HF.

Materiał i metodyka:

Badanie miało charakter przekrojowy. Grupę badaną stanowili pacjenci z HF w klasie II-IV wg klasyfikacji NYHA hospitalizowani w trybie planowym w Klinice Niewydolności Serca i Transplantologii Narodowego Instytutu Kardiologii. Do badania zostało włączonych 36 pacjentów oraz 19 wolontariuszy bez HF (grupa kontrolna dobrana pod względem wieku i płci), którzy wyrazili zgodę na udział w projekcie.

Kryteria włączenia do grupy badanej stanowiły: rozpoznana HF na podstawie objawów klinicznych i obiektywnego kryterium upośledzonej czynności skurczowej EF ≤40% na podstawie badania echokardiograficznego, rytm zatokowy, wiek powyżej 18 r.ż. oraz nieobecność kryteriów wyłączających.

Kryteria wykluczenia stanowiły: choroba nowotworowa w wywiadzie, otępienie, migotanie przedsionków, leczenie przeciwzakrzepowe w okresie 3 miesięcy poprzedzających hospitalizację, niewydolność nerek spowodowana pierwotną chorobą nerek, zakażenie w okresie 3 miesięcy przed hospitalizacją, które wymagałoby stosowania antybiotykoterapii, a także brak zgody na udział w badaniu.



Wyniki:

Charakterystyka badanych grup

Badaną populację stanowi grupa pacjentów, którzy byli kierowani do Kliniki Niewydolności Serca i Transplantologii jako potencjalni kandydaci do rozważenia kwalifikacji do transplantacji serca, stąd też badaną grupę z HF stanowili pacjenci z medianą wieku niższą (=52 lata) niż w standardowej populacji chorych z HF. Pośród pacjentów z niewydolnością serca dominującą (n=21, 58,3%) etiologią upośledzonej funkcji skurczowej była etiologia inna niż niedokrwienna. Zaawansowaną HF (III i IV klasa wg NYHA) prezentowała połowa badanej populacji chorych z HF (n=19, 52,8%). Mężczyźni stanowili większość badanej populacji, ponad 80% w grupie HF (n=30, 83,3%). Ciśnienie tętnicze było wyższe w grupie kontrolnej (SBP w HF 108mmHg [102,5-118,3] vs 123,7mmHg [116,1-131,2] w grupie kontrolnej, p<0,001), jednak mieściło się w granicach wartości prawidłowych. Natomiast częstość rytmu serca była porównywalna w obu grupach i nie przekraczała 70/min (60n/min [56,7-68,0] w HF vs. 65,7n/min [62,0-69,7] w grupie kontrolnej, p=0,28).

Chorzy z HF w większości przypadków otrzymywali optymalną farmakoterapię (ocenianą na podstawie wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego z 2016 r.), 94,4% (n=34) pacjentów było leczonych przy zastosowaniu beta-blokerów, 89% (n=32) chorych stosowało ACEI, 91,7% (n=33) antagonistów aldosteronu (MRA), a 89% (n=32) przyjmowało diuretyki pętlowe. Żadna osoba nie stosowała sakubitrylu/walsartanu, sildenafilu ani nie była leczona przeciwzakrzepowo. Wszyscy pacjenci z etiologią niedokrwienną niewydolności serca (n=15) otrzymywali kwas acetylosalicylowy w dawce 75mg.

W testach oceniających reaktywność naczyń, grupa badana i kontrolna prezentowały podobną zależną od śródbłonka reaktywność naczyń ocenianą w FMD (5,0% [0,05-8,5] w HF, vs 4,6% [2,3-6,7] w grupie kontrolnej, p=0,75), a także nie różniły się istotnie pod względem elastyczności małych naczyń odzwierciedlających funkcję śródbłonka ocenianej w PWA (5,5 ml/mmHg x 100 [3,7-7,1] w HF vs 6,4 ml/mmHg x 100 [4,1-9,1] w grupie kontrolnej, p=0,09). Natomiast reaktywność dużych naczyń (podatność dużych naczyń) była wyższa w grupie pacjentów z HF, w porównaniu do grupy kontrolnej (18,9 ml/mmHg x10 [15,6-23] vs 13,9 ml/mmHg x10 [12,1-17,6], p=0,003). Ponadto stężenie asymetrycznej dimetyloargininy [ADMA] było istotnie wyższe w grupie z HF (1,13µmol/l [0,86-1,4] vs 0,59µmol/l [0,5-0,7], p<0,001).

Dodatkowo wszystkie ocenione w badaniu echokardiograficznym parametry wskazujące na dysfunkcję skurczową różniły się istotnie w porównaniu do grupy kontrolnej, w której były prawidłowe.

Wyniki badań laboratoryjnych.

Spośród parametrów morfologicznych: liczba czerwonych krwinek (4,71 10^6/ul [4,4-4,9] vs 5,12 10^6/ul [5,0-5,3], p<0,001), stężenie hemoglobiny (14,4 g/dl [13,4-14,9] vs 15,7 g/dl [15,1-16,2], p<0,001) oraz hematokryt (43,05% [40,2-45,4] vs 46,2% [44,4-47,9], p<0,001) były niższe w grupie pacjentów z HF, ale mieściły się w zakresie wartości referencyjnych. Z kolei wskaźniki zmienności krwinek czerwonych były wyższe w grupie pacjentów z HF (RDW SD 46,1 fL [43,9-50,1] vs 43,4 fL [41,7-45,2] p<0,001). Ponadto wykazano wyższe stężenie kreatyniny (1,10 mg/dl [1,0-1,4] vs 1,00 mg/dl [0,9-1,0], p=0,005) (przy odpowiednio niższym przesączaniu kłębuszkowym wyrażonym eGFR ocenionym przy pomocy wzoru MDRD) (70,3 ml/min/1,73m^2 [54,9-85,3] vs 82,9

ml/min/1,73m^2 78,2-90], p=0,004) w grupie chorych z HF. Wartości Międzynarodowego Współczynnika Znormalizowanego [INR] były wyższe w grupie pacjentów z HF, jednak nie przekraczały normy (1,07 [1,0-1,1] vs 0,98 [0,97-1,0], p<0,001). Natomiast pozostałe parametry funkcji wątroby mieściły się w zakresie wartości referencyjnych i nie występowały istotne różnice pomiędzy obiema grupami (ALT 25 IU/l [18-43] vs 25 IU/l [21-34] p=0,81; bilirubina całkowita 0,73 mg/dl [0,53-0,98] vs 0,65 mg/dl [0,47-0,79] p=0,18).

Analizowane biomarkery zakrzepowe.

Spośród badanych biomarkerów zwiększonej aktywności zakrzepowej, istotnie wyższe stężenie w grupie chorych z HF zaobserwowano w odniesieniu do stężenia czynnika von Willenbranda [vWF] (1004,6 mU/ml [786,9-1242,3] vs 500,5 mU/ml [373,6-605,6], p<0,001). Natomiast stężenie odszczepionych fragmentów protrombiny [F1+F2] było istotnie wyższe w grupie kontrolnej (5,1 nmol/l [3,4-9,5] vs 11,2 nmol/l [8,3-11,9], p<0,001). Dodatkowo stężenie rozpuszczalnej trombomoduliny [sTM] miało graniczną istotność statystyczną i było wyższe w grupie z HF (12 ng/ml [9,3-16,9] vs 11,2 ng/ml [8,7-12,8], p=0,07). Co więcej, spośród czynników o działaniu antyzakrzepowym jedynie aktywność białka C była istotnie obniżona w grupie z HF, w porównaniu z grupą kontrolną (103 %aktywności [92-119,5] vs 121 %aktywności [98,7-129,5], p=0,04). W przypadku stężeń pozostałych czynników takich jak: kompleksy trombina-antytrombina [TAT] (0,73 ng/l [0,20 – 3,68] vs 0,74 ng/l [0,34 – 3,64], p=0,19), inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 [PAI-1] (43,5 ng/ml [30,97-50,5] vs 45,0 ng/ml [41,8-49,3], p=0,2), tkankowy aktywator plazminogenu [tPA] (23,8 U/l [15,7 – 32,0] vs 20,2 U/l [14,2 – 22,1] p=0,19), nie wykazano istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami.

Związek poszczególnych kategorii zmiennych z funkcją nerek na podstawie analizy kanonicznej

W celu zbadania siły związku zmiennych z funkcją nerek, z uwagi na dużą ilość potencjalnych czynników oraz stosunkowo małą liczebność grupy, zastosowano korelację kanoniczną do utworzenia pięciu kategorii/indeksów dla określonych grup zmiennych: 1) parametrów laboratoryjnych; 2) reaktywności naczyń; 3) biomarkerów (parametrów) zakrzepowych; 4) parametrów hemodynamicznych i 5) echokardiograficznych.

Celem korelacji kanonicznej było wykazanie związku między zmiennymi w poszczególnych kategoriach oraz poszczególnymi kategoriami zmiennych a eGFR. Każda z kategorii stanowiła odrębną grupę podobnych czynników. W każdej kategorii oceniano związek z poszczególnymi zmiennymi a zmienną zależną (eGFR) i oceniono współliniowość porównywanych zmiennych.

W każdej z kategorii wytypowano za pomocą korelacji kanonicznej grupę czynników najsilniej powiązanych z eGFR. Wykazano, że każda z utworzonych kategorii (indeksów) była istotnie związana z funkcją nerek. Indeks biomarkerów zakrzepowych był kategorią zmiennych która miała najsilniejszy związek z eGFR (współczynnik korelacji = 0,7 $p<0,0001$). W jego skład wchodziły takie parametry jak: sTM, vWF, białko C, tPA.

Analizy wielu zmiennych w celu wytypowania czynników predykcyjnych funkcji nerek.

W dalszym etapie analiz utworzono model regresji liniowej wielu zmiennych z wytypowanymi poprzednio indeksami badanych parametrów w celu oceny, która z utworzonych kategorii czynników najsilniej jest związana z eGFR. W tej analizie wykazano, że jedynie biomarkery zakrzepowe, hemodynamiczne i echokardiograficzne

są istotnie związane z funkcją nerek. Spośród wszystkich zmiennych indeks biomarkerów zakrzepowych jest najsilniej związany z eGFR, odpowiadał, aż za 48% zmienności przesączania kłębuszkowego. Pozostałe parametry odgrywały mniejszą rolę.

Następnie utworzono model regresji logistycznej wielu zmiennych w celu oceny, który z utworzonych indeksów jest czynnikiem predykcyjnym upośledzonej funkcji nerek. W tym celu przeprowadzono stratyfikację całej populacji badania w zależności od stopnia dysfunkcji nerek (eGFR <60ml/min/1,73m^2). Spośród wszystkich analizowanych zmiennych jedynie płeć męska (p=0,015) oraz indeks biomarkerów zakrzepowych (p=0,001) były czynnikami niezależnie związanymi z upośledzeniem funkcji nerek. Końcowy model był wysoce predykcyjny (p<0,001) a pole powierzchni pod krzywą wynosiło 0,925.

Ograniczenia badania:

Głównym ograniczeniem badania jest mała, wyselekcjonowana grupa badana z HF, co utrudnia uogólnienie wniosków oraz jednoznaczne określenie implikacji klinicznych na podstawie uzyskanych wyników. Oceniane były tylko wybrane biomarkery zakrzepowe. Kolejnym aspektem jest przekrojowy charakter pracy, co uniemożliwia wyciąganie wniosków dotyczących związku przyczynowo-skutkowego.

Wnioski:

1. Pacjenci z niewydolnością serca charakteryzują się aktywacją śródbłonka i wyższymi wartościami biomarkerów zakrzepowych.

2. Spośród wszystkich analizowanych parametrów to biomarkery zakrzepowe, także bezpośrednio związane z dysfunkcją śródbłonka są najsilniejszymi niezależnymi czynnikami odpowiedzialnymi za zmienność eGFR.
3. Biomarkery zakrzepowe są niezależnymi czynnikami predykcyjnymi niewydolności nerek w badanej populacji.
4. Oznaczanie biomarkerów zakrzepowych w populacji chorych z HF może potencjalnie umożliwić identyfikację chorych zagrożonych niewydolnością nerek co wymaga potwierdzenia w badaniach prospektywnych.

10. Summary

Introduction:

Heart failure [HF] is a chronic, progressive disease with a prevalence rate up to 3-4% in the general population. Despite new therapeutic opportunities the morbidity and mortality of HF remain very high. Patients with end-stage, severe HF exhibit an annual mortality rate of nearly 50%.

Coexisting diseases often complicate the course of HF and have been recognized as one of the factors that worsen the prognosis of the HF. Renal failure is one of the most frequent~~ly~~ comorbidity in HF, with a prevalence rate up to approximately 50%.

The pathophysiology of progressive multi-organ failure in HF is complex and not solely related to hemodynamic disorders. Better understanding of the causes that contribute to the reduction of estimated glomerular filtration rate [eGFR] is essential to develop new treatment strategies in order to improve the prognosis of patients.

Currently, numerous mechanisms have been postulated to be responsible for worsening renal function in the population of patients with HF. However, not all interactions are known. Researchers are still looking for factors whose modification could reduce the progression of renal failure and thus significantly improve prognosis of this group of patients.

Many analyses indicate a connection between coagulation disorders and endothelial dysfunction with renal failure. In HF endothelial dysfunction occurs in a variety of vascular beds and contributes renal microcirculatory impairment. To date, there are no analyses in the available literature investigating the association of thrombotic biomarkers with worsening renal function in the HF population. In the

current dissertation, we assessed endothelial function and thrombotic biomarkers in a population of patients with HF and analyzed their association with impaired renal function, together with other parameters that may influence eGFR reduction.

Aims of the study:

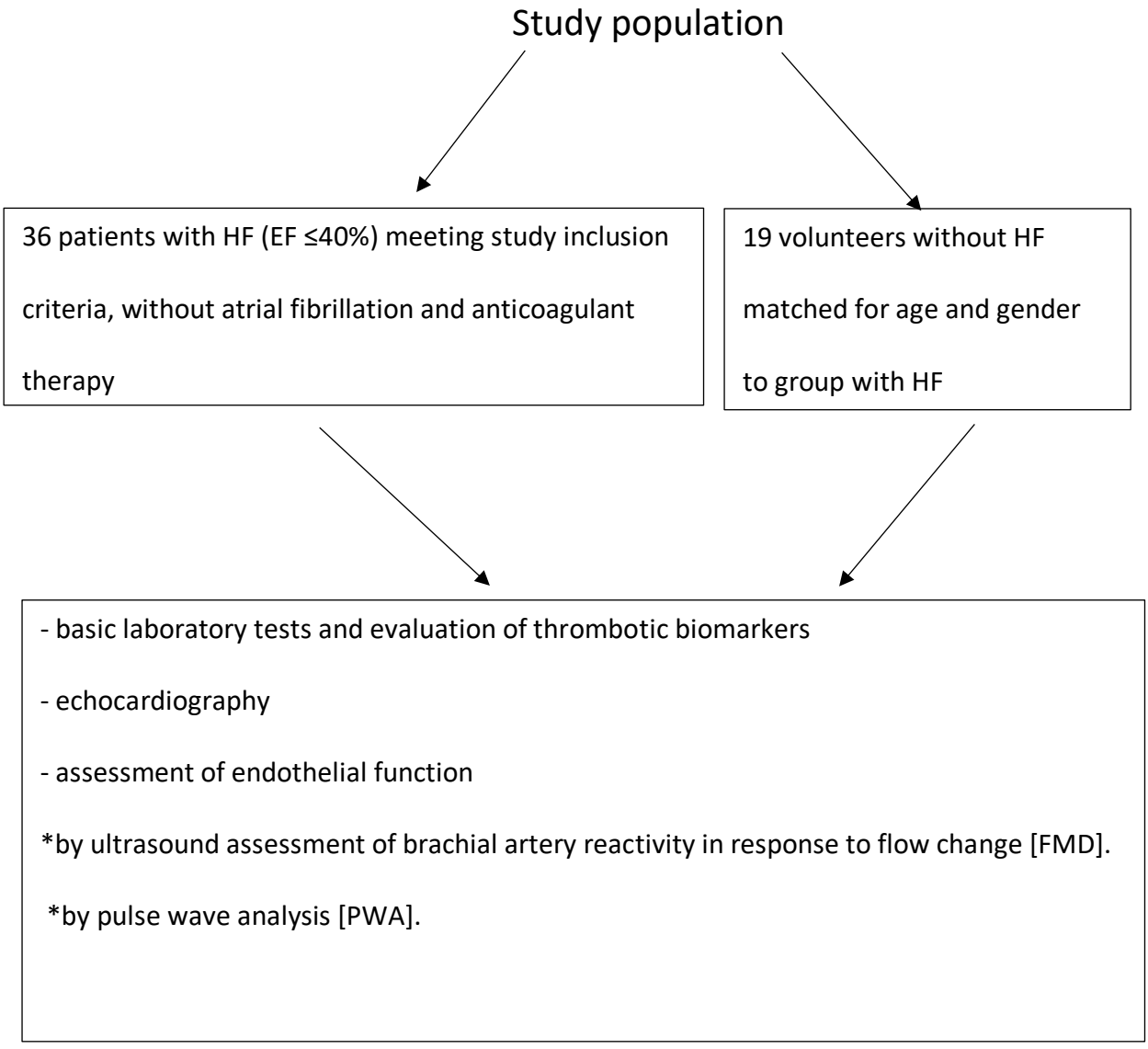
1. Evaluation of selected coagulation and endothelial dysfunction biomarkers in the population of HF patients and assessment of their correlation with biochemical, hemodynamic and echocardiographic parameters.
2. Comparison of selected coagulation biomarkers between HF study group and ~~a~~ control group without HF.
3. Identification of parameters associated with impaired renal function in the population of patients with HF.
4. Determination of a relationship between coagulation and endothelial dysfunction biomarkers and renal failure in the course of HF.

Materials and methods:

This is a cross-sectional study of subsequently electively admitted patients with HF (NYHA II-IV) with an ejection fraction (EF) ≤40% and sinus rhythm, hospitalized in the Department of Cardiology. A total of 36 patients were included in the study, along with 19 volunteers without HF (age- and gender-matched control group).

The inclusion criteria were as follows: diagnosed HF based on clinical symptoms and objective criterion of reduced systolic function (EF≤40%) determined by echocardiographic examination, sinus rhythm, patients above 18 years of age and absence of exclusion criteria. The exclusion criteria were: a history of cancer, dementia,

atrial fibrillation, anticoagulant therapy in the 3 months preceding hospitalization, renal failure caused by primary renal disease, infection in the 3 months prior to hospitalization that would require antibiotic therapy, and a lack of consent to participate in the study.



Results:

Characteristics of the study groups

The study population is a group of patients referred to the Department of Heart Failure and Transplantation as potential candidates for consideration of heart transplant eligibility. The study group with HF consisted of patients with a median age lower (=52 years) than in the standard HF population. In patients with heart failure, the predominant etiology of impaired systolic function was non-ischemic (n=21, 58.3%). Advanced HF (NYHA class III and IV) was presented in half of the study population of patients with HF (n=19, 52.8%). Men constituted the majority of the study population, more than 80% in the HF group (n=30, 83.3%). Blood pressure was higher in the control group (SBP in HF 108mmHg [102.5-118.3] vs 123.7mmHg [116.1-131.2] in control group, $p<0.001$) but it still remained within the normal range. Heart rate frequency was comparable in both groups and did not exceed 70 beats per minute (60n/min [56.7-68.0] in HF vs. 65.7n/min [62.0-69.7] in control group, p=0.28).

Patients with HF were mostly receiving optimal pharmacotherapy (assessed by the 2016 European Society of Cardiology guidelines), with 94.4% (n=34) of patients being treated with beta-blockers, 89% (n=32) of patients using ACEIs, 91.7% (n=33) using aldosterone antagonists (MRAs), and 89% (n=32) taking loop diuretics. None taking sacubitril/valsartan, sildenafil or anticoagulant therapy. All patients with ischemic etiology of heart failure (n=15) were on acetylsalicylic acid 75mg.

In tests assessing vascular reactivity, the study and control groups presented similar endothelium-dependent vascular reactivity assessed by FMD (5.0% [0.05-8.5] in HF, vs. 4.6% [2.3-6.7] in the control group, p=0.75), and also did not differ significantly in small vessel elasticity reflecting endothelial function as assessed by PWA (5.5

ml/mmHg x 100 [3.7-7.1] in HF vs 6.4 ml/mmHg x 100 [4.1-9.1] in control, p=0.09). On the other hand, large vessel reactivity (large vessel compliance) was higher in the HF group, compared to the control group (18.9 ml/mmHg x10 [15.6-23] vs 13.9 ml/mmHg x10 [12.1-17.6], p=0.003). Furthermore, asymmetric dimethylarginine [ADMA] levels were significantly higher in the HF group (1.13µmol/l [0.86-1.4] vs 0.59µmol/l [0.5-0.7], p<0.001).

In addition, all parameters assessed by echocardiography indicating systolic dysfunction were significantly different compared to the normal values in the control group.

Laboratory results.

Among morphological parameters: red blood cell count (4.71 10^6/ul [4.4-4.9] vs 5.12 10^6/ul [5.0-5.3], p<0.001), hemoglobin concentration (14.4 g/dl [13.4-14.9] vs 15.7 g/dl [15.1-16.2], p<0, 001) and hematocrit (43.05% [40.2-45.4] vs 46.2% [44.4-47.9], p<0.001) were lower in the HF group, but were within reference values. In contrast, red blood cell variation rates were higher in the HF patient group (RDW SD 46.1 fL [43.9-50.1] vs 43.4 fL [41.7-45.2] p<0.001). In addition, higher creatinine levels (1.10 mg/dL [1.0-1.4] vs. 1.00 mg/dL [0.9-1.0], p=0.005) (with correspondingly lower glomerular filtration rate expressed by eGFR assessed by the MDRD formula) (70.3 ml/min/1.73m2 [54.9-85.3] vs. 82.9 ml/min/1.73m2 [78.2-90], p=0.004) were demonstrated in the HF group. International Normalized Ratio [INR] values were higher in the HF patient group, but did not exceed the normal values (1.07 [1.0-1.1] vs 0.98 [0.97-1.0], p<0.001). In contrast, other liver function parameters were within the reference values and there

were no significant differences between the two groups (ALT 25 IU/l [18-43] vs 25 IU/l [21-34] p=0.81; total bilirubin 0.73 mg/dl [0.53-0.98] vs 0.65 mg/dl [0.47-0.79] p=0.18).

Thrombotic biomarkers analyzed.

Of the biomarkers of increased thrombotic activity studied, significantly higher levels of von Willenbrand factor [vWF] were observed in the HF patient group (1004.6 mU/ml [786.9-1242.3] vs 500.5 mU/ml [373.6-605.6], p<0.001). In contrast, the concentration of cleaved prothrombin fragments [F1+F2] was significantly higher in the control group (5.1 nmol/l [3.4-9.5] vs 11.2 nmol/l [8.3-11.9], p<0.001). In addition, soluble thrombomodulin [sTM] levels had borderline statistical significance and were higher in the HF group (12 ng/ml [9.3-16.9] vs 11.2 ng/ml [8.7-12.8], p=0.07). Moreover, among the factors with antithrombotic effects, only protein C activity was significantly reduced in the group with HF, compared to the control group (103% activity [92-119.5] vs 121% activity [98.7-129.5], p=0.04). The concentrations of other factors such as: thrombin-antithrombin complexes [TAT] (0.73 ng/l [0.20 - 3.68] vs 0.74 ng/l [0.34 - 3.64], p=0.19), plasminogen activator inhibitor type 1 [PAI-1] (43.5 ng/ml [30.97-50.5] vs 45, 0 ng/ml [41.8-49.3], p=0.2), tissue plasminogen activator [tPA] (23.8 U/l [15.7 - 32.0] vs 20.2 U/l [14.2 - 22.1] p=0.19), showed no significant differences between the study groups.

Association of specific categories of variables with renal function based on canonical analysis.

To examine the strength of the association of variables with renal function, given the large number of potential factors and the relatively small group size, canonical correlation was used to create five categories/indices for specific groups of variables: 1) laboratory parameters; 2) vascular reactivity; 3) thrombotic biomarkers (parameters); 4) hemodynamic parameters and 5) echocardiographic parameters.

The purpose of the canonical correlation was to demonstrate the relationship between the variables in each category and individual categories of variables and eGFR. Each category was a distinct group of similar factors. In each category, the association with individual variables and the dependent variable (eGFR) was evaluated, and the collinearity of the compared variables was assessed.

In each category, a group of factors most strongly associated with eGFR was selected using canonical correlation. It was shown that each of the created categories (indices) was significantly associated with renal function. The index of thrombotic biomarkers was the category of variables with the strongest association with eGFR (correlation coefficient = 0.7 $p<0.0001$). It included parameters such as sTM, vWF, protein C, and tPA.

Analysis of multiple variables to select predictive factors of renal function.

In a further step of the analyses, a multivariable linear regression model was created with the previously selected indexes of the studied parameters to assess which is most strongly associated with eGFR. This analysis showed that only thrombotic, hemodynamic and echocardiographic biomarkers were significantly associated with

renal function. Of all the variables, the index of thrombotic biomarkers is most strongly associated with eGFR; it accounted for, as much as 48% of the variation in glomerular filtration rate. The other parameters played a lesser role.

A multivariable logistic regression model was then developed to assess which of the created indices was a predictor of impaired renal function. For this purpose, the entire study population was stratified according to the degree of renal dysfunction (eGFR <60ml/min/1.73m2). Of all variables analyzed, only male gender (p=0.015) and thrombotic biomarker index (p=0.001) were independently associated with impaired renal function. The final model was highly predictive (p<0.001) and the area under the curve was 0.925.

Limitations of the study:

The main limitation of the study is the small, selected study group with HF, which makes it difficult to generalize conclusions and to clearly define clinical implications based on the results. Still, only selected thrombotic biomarkers were evaluated. Another aspect is the cross-sectional nature of the study, which makes it impossible to draw conclusions about the cause-and-effect relationship.

Conclusions:

1. Patients with HF exhibit endothelial activation and higher values of thrombotic biomarkers.
2. Of all the parameters analyzed, thrombotic biomarkers, including these directly related with endothelial dysfunction, are the strongest independent factors associated with eGFR variability.
3. Thrombotic biomarkers are independent predictors of renal failure in a representative sample of the population.
4. The determination of thrombotic biomarkers in patients with HF may potentially allow the identification of individuals at risk of renal failure. However, this needs to be confirmed in prospective studies.

11. Spis tabel

Tabela 1. Wybrane biomarkery zakrzepowe, dysfunkcji śródbłonka 37

Tabela 2. Charakterystyka badanych grup. 43

Tabela 3. Badania laboratoryjne. 44

Tabela 4. Echokardiografia i testy reaktywności naczyniowej. 46

Tabela 5. Biomarkery zakrzepowe 47

Tabela 6. Charakterystyka chorych z niewydolnością serca w zależności od etiologii HF 49

Tabela 7. Badania laboratoryjne w zależności od etiologii HF 50

Tabela 8. Parametry echokardiograficzne i testy reaktywności naczyniowej w zależności od etiologii HF 51

Tabela 9. Biomarkery zakrzepowe w zależności od etiologii HF 52

Tabela 10. Korelacje biomarkerów z parametrami hemodynamicznymi oraz z wiekiem. 54

Tabela 11. Korelacje biomarkerów zakrzepowych z oceną funkcji śródbłonka. 55

Tabela 12. Korelacje biomarkerów zakrzepowych z badaniami laboratoryjnymi 57

Tabela 13. Korelacje biomarkerów zakrzepowych z parametrami echokardiograficznymi 59

Tabela 14. Wyniki analizy regresji liniowej oceniającej zależność pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi, a zmiennymi demograficznymi i hemodynamicznymi. 60

Tabela 15. Wyniki regresji liniowej oceniającej związek pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi a badaniami laboratoryjnymi 62

Tabela 16. Wyniki regresji liniowej oceniającej związek pomiędzy biomarkerami zakrzepowymi a parametrami echokardiograficznymi 64

Tabela 17. Modele regresji liniowej wielu zmiennych dla biomarkerów zakrzepowych na podstawie wszystkich analizowanych parametrów. 66

Tabela 18. Współczynniki korelacji z logarytmem eGFR 68

Tabela 19. Kanoniczna korelacja utworzonych kategorii z eGFR. 71

Tabela 20. Regresja liniowa czynników predykcyjnych eGFR. 73

Tabela 21. Model regresji logistycznej dla nieprawidłowej funkcji nerek (eGFR <60 ml/min/1,73m^2) 75

12. Spis rycin

Rycina 1. „Błędne koło” adaptacyjnych mechanizmów niewydolności serca ……..11

Rycina 2. Śródbłonek naczyniowy, jego funkcje……...17

Rycina 3. Obraz ultrasonograficzny tętnicy ramiennej w FMD.……..34

Rycina 4. Przykładowy wynik pomiarów z analizy PWA……36

13. Bibliografia

1. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. Eur J Heart Fail. 2022;24(1):4-131.

2. Ziaeian B, Fonarow GC. Epidemiology and aetiology of heart failure. Nat Rev Cardiol. 2016;13(6):368-78.

3. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. Heart. 2007;93(9):1137-46.

4. Tanai E, Frantz S. Pathophysiology of Heart Failure. Compr Physiol. 2015;6(1):187-214.

5. Nessler J, Gackowski A. Przewlekła niewydolność serca kompendium 2016 Via Medica. Via Medica2016.

6. Mazurek JA, Jessup M. Understanding Heart Failure. Heart Fail Clin. 2017;13(1):1-19.

7. Lelonek M, Grabowski M, Kasprzak JD, Leszek P, Nessler J, Pawlak A, et al. An expert opinion of the Heart Failure Association of the Polish Cardiac Society on the 2021 European Society of Cardiology guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Heart failure guidelines from a national perspective. Kardiol Pol. 2022;80(2):239-46.

8. Rozentryt P. The fog over heart failure epidemiology in Poland has just started to rise. Pol Arch Intern Med. 2022;132(4).

9. Karasek D, Kubica A, Sinkiewicz W, Błażejewski J, Bujak R. Epidemia niewydolności serca — problem zdrowotny i społeczny starzejących się społeczeństw Polski i Europy Folia Cardiologica Excerpta2008. p. 242-8.

10. Lelonek M, Pawlak A, Nessler J, Bohdan M, Hryniewiecki T, Władysiuk M. Niewydolność serca w Polsce 2014-2021. Raport https://www.niewydolnosc-serca.pl/doc/ANS_raport_01.09_.pdf: Asocjacja Niewydolności Serca PTK; 2023 [

11. Bauersachs J, Widder JD. Endothelial dysfunction in heart failure. Pharmacol Rep. 2008;60(1):119-26.

12. Polaska P, Jerzak-Wodzynska G, Smigielski W, Gajda J, Rozentryt P, Korewicki J, et al. Long term outcome of heart failure patients disqualified from heart transplantation. Acta Cardiol. 2021;76(5):525-33.

13. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2016;25(1):16-27.

14. International Agency for Research on Cancer Section of Cancer Surveillance . CancerMondial. Available from : http://www-dep.iarc.fr/2022.

15. Polskie Towarzystwo Kardiologiczne. Niewydolność serca w Polsce – raport 2016, materiały informacyjne Sekcji Niewydolności Serca PTK. http://www.niewydolnosc-serca.pl/barometr2016.

16. Ahmed A, Allman RM, Fonarow GC, Love TE, Zannad F, Dell'italia LJ, et al. Incident heart failure hospitalization and subsequent mortality in chronic heart failure: a propensity-matched study. J Card Fail. 2008;14(3):211-8.

17. Solomon SD, Dobson J, Pocock S, Skali H, McMurray JJ, Granger CB, et al. Influence of nonfatal hospitalization for heart failure on subsequent mortality in patients with chronic heart failure. Circulation. 2007;116(13):1482-7.

18. Rushton CA, Satchithananda DK, Jones PW, Kadam UT. Non-cardiovascular comorbidity, severity and prognosis in non-selected heart failure populations: A systematic review and meta-analysis. Int J Cardiol. 2015;196:98-106.

19. van Deursen VM, Urso R, Laroche C, Damman K, Dahlström U, Tavazzi L, et al. Co-morbidities in patients with heart failure: an analysis of the European Heart Failure Pilot Survey. Eur J Heart Fail. 2014;16(1):103-11.

20. Manemann SM, Chamberlain AM, Roger VL, Boyd C, Cheville A, Dunlay SM, et al. Multimorbidity and Functional Limitation in Individuals with Heart Failure: A Prospective Community Study. J Am Geriatr Soc. 2018;66(6):1101-7.

21. Manemann SM, Chamberlain AM, Boyd CM, Gerber Y, Dunlay SM, Weston SA, et al. Multimorbidity in Heart Failure: Effect on Outcomes. J Am Geriatr Soc. 2016;64(7):1469-74.

22. Rywik TM, Kołodziej P, Targoński R, Fedyk-Łukasik M, Nowicka A, Zinka E, et al. Characteristics of the heart failure population in Poland: ZOPAN, a multicentre national programme. Kardiol Pol. 2011;69(1):24-31.

23. Smith GL, Lichtman JH, Bracken MB, Shlipak MG, Phillips CO, DiCapua P, et al. Renal impairment and outcomes in heart failure: systematic review and meta-analysis. J Am Coll Cardiol. 2006;47(10):1987-96.

24. Damman K, Valente MA, Voors AA, O'Connor CM, van Veldhuisen DJ, Hillege HL. Renal impairment, worsening renal function, and outcome in patients with heart failure: an updated meta-analysis. Eur Heart J. 2014;35(7):455-69.

25. Schefold JC, Filippatos G, Hasenfuss G, Anker SD, von Haehling S. Heart failure and kidney dysfunction: epidemiology, mechanisms and management. Nat Rev Nephrol. 2016;12(10):610-23.

26. Ronco C, Haapio M, House AA, Anavekar N, Bellomo R. Cardiorenal syndrome. J Am Coll Cardiol. 2008;52(19):1527-39.

27. Stompór T. Zespoły sercowo - nerkowe, czyli o nie zawsze przyjaznym dialogu pomiędzy sercem a nerką. Medycyna Praktyczna, mp.pl2021.

28. Mullens W, Abrahams Z, Francis GS, Sokos G, Taylor DO, Starling RC, et al. Importance of venous congestion for worsening of renal function in advanced decompensated heart failure. J Am Coll Cardiol. 2009;53(7):589-96.

29. Heywood JT, Fonarow GC, Costanzo MR, Mathur VS, Wigneswaran JR, Wynne J, et al. High prevalence of renal dysfunction and its impact on outcome in 118,465 patients hospitalized with acute decompensated heart failure: a report from the ADHERE database. J Card Fail. 2007;13(6):422-30.

30. Naranjo M, Lerma EV, Rangaswami J. Cardio-Renal Syndrome: A double edged sword. Dis Mon. 2017;63(4):92-100.

31. Goette A. Atrial fibrillation and stroke risk factors induce decline in creatinine clearance: Is there a specific "fibrillatory kidney disease"? Int J Cardiol. 2018;253:82-3.

32. Beyer-Westendorf J, Kreutz R, Posch F, Ay C. The CHA. Int J Cardiol. 2018;253:71-7.

33. Traczyk W. Fizjologia człowieka w zarysie. PZWL; 2000.

34. Cugno M, Mari D, Meroni PL, Gronda E, Vicari F, Frigerio M, et al. Haemostatic and inflammatory biomarkers in advanced chronic heart failure: role of oral anticoagulants and successful heart transplantation. Br J Haematol. 2004;126(1):85-92.

35. De Lorenzo F, Saba N, Kakkar VV. Blood coagulation in patients with chronic heart failure: evidence for hypercoagulable state and potential for pharmacological intervention. Drugs. 2003;63(6):565-76.

36. Shantsila E, Wrigley BJ, Blann AD, Gill PS, Lip GY. A contemporary view on endothelial function in heart failure. Eur J Heart Fail. 2012;14(8):873-81.

37. Zhang J, Bottiglieri T, McCullough PA. The Central Role of Endothelial Dysfunction in Cardiorenal Syndrome. Cardiorenal Med. 2017;7(2):104-17.

38. Hatamizadeh P, Fonarow GC, Budoff MJ, Darabian S, Kovesdy CP, Kalantar-Zadeh K. Cardiorenal syndrome: pathophysiology and potential targets for clinical management. Nat Rev Nephrol. 2013;9(2):99-111.

39. Cohen L. The cardiorenal syndrome: pathophysiologic crosstalk, outcomes, and treatment targets. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. 2014;14(3):170-6.

40. Satchell SC, Braet F. Glomerular endothelial cell fenestrations: an integral component of the glomerular filtration barrier. Am J Physiol Renal Physiol. 2009;296(5):F947-56.

41. Daehn I, Casalena G, Zhang T, Shi S, Fenninger F, Barasch N, et al. Endothelial mitochondrial oxidative stress determines podocyte depletion in segmental glomerulosclerosis. J Clin Invest. 2014;124(4):1608-21.

42. Rabelink TJ, Wijewickrama DC, de Koning EJ. Peritubular endothelium: the Achilles heel of the kidney? Kidney Int. 2007;72(8):926-30.

43. Pober JS, Sessa WC. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. Nat Rev Immunol. 2007;7(10):803-15.

44. Jourde-Chiche N, Fakhouri F, Dou L, Bellien J, Burtey S, Frimat M, et al. Endothelium structure and function in kidney health and disease. Nat Rev Nephrol. 2019;15(2):87-108.

45. Rossi GP, Seccia TM, Barton M, Danser AHJ, de Leeuw PW, Dhaun N, et al. Endothelial factors in the pathogenesis and treatment of chronic kidney disease Part I: General mechanisms: a joint consensus statement from the European Society of Hypertension

Working Group on Endothelin and Endothelial Factors and The Japanese Society of Hypertension. J Hypertens. 2018;36(3):451-61.

46. Rossi GP, Seccia TM, Barton M, Danser AHJ, de Leeuw PW, Dhaun N, et al. Endothelial factors in the pathogenesis and treatment of chronic kidney disease Part II: Role in disease conditions: a joint consensus statement from the European Society of Hypertension Working Group on Endothelin and Endothelial Factors and the Japanese Society of Hypertension. J Hypertens. 2018;36(3):462-71.

47. Trojan P, Janik M, Przybyło M. Śródbłonek - niedoceniany organ. 1. budowa i rola w procesach fizjologicznych. Kosmos. Problemy nauk biologicznych.2014.

48. Godo S, Shimokawa H. Endothelial Functions. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2017;37(9):e108-e14.

49. Kieda C. How endothelial cell organo-specificity mediates circulating cell homing. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2003;51(2):81-9.

50. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, et al. The vascular endothelium and human diseases. Int J Biol Sci. 2013;9(10):1057-69.

51. Neubauer M, Ramschak H, Lanzer G. [Antithrombin III, the most important inhibitor of hemostasis. Physiology and clinical aspects]. Wien Med Wochenschr. 1986;136(21-22):560-2.

52. Verhamme P, Hoylaerts MF. The pivotal role of the endothelium in haemostasis and thrombosis. Acta Clin Belg. 2006;61(5):213-9.

53. Bouras G, Deftereos S, Tousoulis D, Giannopoulos G, Chatzis G, Tsounis D, et al. Asymmetric Dimethylarginine (ADMA): a promising biomarker for cardiovascular disease? Curr Top Med Chem. 2013;13(2):180-200.

54. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. Circulation. 1999;99(9):1141-6.

55. Konya H, Miuchi M, Satani K, Matsutani S, Yano Y, Tsunoda T, et al. Asymmetric dimethylarginine, a biomarker of cardiovascular complications in diabetes mellitus. World J Exp Med. 2015;5(2):110-9.

56. Heunisch F, Chaykovska L, von Einem G, Alter M, Dschietzig T, Kretschmer A, et al. ADMA predicts major adverse renal events in patients with mild renal impairment and/or diabetes mellitus undergoing coronary angiography. Medicine (Baltimore). 2017;96(6):e6065.

57. Caglar K, Yilmaz MI, Sonmez A, Cakir E, Kaya A, Acikel C, et al. ADMA, proteinuria, and insulin resistance in non-diabetic stage I chronic kidney disease. Kidney Int. 2006;70(4):781-7.

58. Ravani P, Tripepi G, Malberti F, Testa S, Mallamaci F, Zoccali C. Asymmetrical dimethylarginine predicts progression to dialysis and death in patients with chronic kidney disease: a competing risks modeling approach. J Am Soc Nephrol. 2005;16(8):2449-55.

59. Böger RH, Zoccali C. ADMA: a novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. Atheroscler Suppl. 2003;4(4):23-8.

60. Abedini S, Meinitzer A, Holme I, März W, Weihrauch G, Fellstrøm B, et al. Asymmetrical dimethylarginine is associated with renal and cardiovascular outcomes and all-cause mortality in renal transplant recipients. Kidney Int. 2010;77(1):44-50.

61. A. S. Uber kreislaufregulatorische Vorgiinge an den groBen Arterien

bei der Muskelarbeit. Pflüger's Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere1933.

62. Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ. Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? Chest. 2005;127(6):2254-63.

63. Kelm M. Flow-mediated dilatation in human circulation: diagnostic and therapeutic aspects. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002;282(1):H1-5.

64. Lane HA, Smith JC, Davies JS. Noninvasive assessment of preclinical atherosclerosis. Vasc Health Risk Manag. 2006;2(1):19-30.

65. Zhou J, Wang Y, Feng Y, Chen X, Zhang Q. New indices of arterial stiffness correlate with disease severity and mid-term prognosis in acute decompensated heart failure. Intern Emerg Med. 2021;16(3):661-8.

66. Ooi H, Chung W, Biolo A. Arterial stiffness and vascular load in heart failure. Congest Heart Fail. 2008;14(1):31-6.

67. Vriz O, Fadl Elmula FM, Antonini-Canterin F. Noninvasive Assessment of Ventricular-Arterial Coupling in Heart Failure. Heart Fail Clin. 2021;17(2):245-54.

68. Demir S, Akpınar O, Akkus O, Nas K, Unal I, Molnar F, et al. The prognostic value of arterial stiffness in systolic heart failure. Cardiol J. 2013;20(6):665-71.

69. Voicehovska JG, Bormane E, Grigane A, Moisejevs G, Moreino E, Trumpika D, et al. Association of Arterial Stiffness With Chronic Kidney Disease Progression and Mortality. Heart Lung Circ. 2021;30(11):1694-701.

70. Briet M, Boutouyrie P, Laurent S, London GM. Arterial stiffness and pulse pressure in CKD and ESRD. Kidney Int. 2012;82(4):388-400.

71. Georgianos PI, Sarafidis PA, Liakopoulos V. Arterial Stiffness: A Novel Risk Factor for Kidney Injury Progression? Am J Hypertens. 2015;28(8):958-65.

72. Guo X, Li Y, Yang Y, Wang W, Liang S, Zheng Y, et al. Noninvasive markers of arterial stiffness and renal outcomes in patients with chronic kidney disease. J Clin Hypertens (Greenwich). 2021;23(4):823-30.

73. Tao J, Liu DH, Wang LC, Wang JM, Wang Y, Yang Z, et al. Arterial elasticity identified by pulse wave analysis and its relation to endothelial function in patients with coronary artery disease. J Hum Hypertens. 2007;21(2):149-53.

74. Tao J, Jin YF, Yang Z, Wang LC, Gao XR, Lui L, et al. Reduced arterial elasticity is associated with endothelial dysfunction in persons of advancing age: comparative study of noninvasive pulse wave analysis and laser Doppler blood flow measurement. Am J Hypertens. 2004;17(8):654-9.

75. Marckmann P, Nawroth P, Wahl P, Jespersen J. Diet, gender, and plasma thrombomodulin. Thromb Res. 1996;82(5):439-43.

76. Ohlin AK, Larsson K, Hansson M. Soluble thrombomodulin activity and soluble thrombomodulin antigen in plasma. J Thromb Haemost. 2005;3(5):976-82.

77. Blann A, Seigneur M. Soluble markers of endothelial cell function. Clin Hemorheol Microcirc. 1997;17(1):3-11.

78. Brown AM, Cleland JG. Influence of concomitant disease on patterns of hospitalization in patients with heart failure discharged from Scottish hospitals in 1995. Eur Heart J. 1998;19(7):1063-9.

79. Lip GY, Blann A. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders? Cardiovasc Res. 1997;34(2):255-65.

80. Eddy AA. Plasminogen activator inhibitor-1 and the kidney. Am J Physiol Renal Physiol. 2002;283(2):F209-20.

81. Mimuro J. [Type 1 plasminogen activator inhibitor: its role in biological reactions]. Rinsho Ketsueki. 1991;32(5):487-9.

82. Binder BR, Christ G, Gruber F, Grubic N, Hufnagl P, Krebs M, et al. Plasminogen activator inhibitor 1: physiological and pathophysiological roles. News Physiol Sci. 2002;17:56-61.

83. Blann AD, Taberner DA. A reliable marker of endothelial cell dysfunction: does it exist? Br J Haematol. 1995;90(2):244-8.

84. Blann AD. Assessment of endothelial dysfunction: focus on atherothrombotic disease. Pathophysiol Haemost Thromb. 2003;33(5-6):256-61.

85. Suzuki Y, Mogami H, Ihara H, Urano T. Unique secretory dynamics of tissue plasminogen activator and its modulation by plasminogen activator inhibitor-1 in vascular endothelial cells. Blood. 2009;113(2):470-8.

86. Muldowney JA, Vaughan DE. Tissue-type plasminogen activator release: new frontiers in endothelial function. J Am Coll Cardiol. 2002;40(5):967-9.

87. Lippi G, Cervellin G, Franchini M, Favaloro EJ. Biochemical markers for the diagnosis of venous thromboembolism: the past, present and future. J Thromb Thrombolysis. 2010;30(4):459-71.

88. Merlini PA, Ardissino D. Laboratory Measurement of Thrombin Activity--What Every Clinician Scientist Needs to Know. J Thromb Thrombolysis. 1995;2(2):85-92.

89. Lundbech M, Krag AE, Christensen TD, Hvas AM. Corrigendum to "Thrombin generation, thrombin-antithrombin complex, and prothrombin fragment F1+2 as biomarkers for hypercoagulability in cancer patients" [Thromb. Res. 186 2020. 80-85]. Thromb Res. 2021.

90. Lundbech M, Krag AE, Christensen TD, Hvas AM. Thrombin generation, thrombin-antithrombin complex, and prothrombin fragment F1+2 as biomarkers for hypercoagulability in cancer patients. Thromb Res. 2020;186:80-5.

91. Maruyama I. [Prothrombin (factor II) and prothrombin fragment 1+2 (F1+2)]. Nihon Rinsho. 2004;62 Suppl 12:623-5.

92. Joshi A, Magder LS, Kon Z, Kallam S, Kwon M, Sangrampurkar R, et al. Association between prothrombin activation fragment (F1.2), cerebral ischemia (S-100beta) and international normalized ratio (INR) in patients with ventricular assisted devices. Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2007;6(3):323-7.

93. Brack MJ, More RS, Hubner PJ, Gershlick AH. Prothrombin fragment F1 + 2 concentrations for monitoring anticoagulation therapy with heparin. Int J Cardiol. 1993;38(1):57-61.

94. Yang Y, Feng G, Yan J, Wu L, Wang F, Ding D, et al. Plasminogen activator inhibitor-1, thrombin-antithrombin, and prothrombin fragment F1+2 have higher diagnostic values than D-dimer for venous thromboembolism after TKA. Clin Appl Thromb Hemost. 2022;28:10760296221097383.

95. Stojanovski BM, Pelc LA, Di Cera E. Role of the activation peptide in the mechanism of protein C activation. Sci Rep. 2020;10(1):11079.

96. Wilhelm AR, Parsons NA, Samelson-Jones BJ, Davidson RJ, Esmon CT, Camire RM, et al. Activated protein C has a regulatory role in factor VIII function. Blood. 2021;137(18):2532-43.

97. Bouwens EA, Stavenuiter F, Mosnier LO. Mechanisms of anticoagulant and cytoprotective actions of the protein C pathway. J Thromb Haemost. 2013;11 Suppl 1:242-53.

98. Shahzad K, Kohli S, Al-Dabet MM, Isermann B. Cell biology of activated protein C. Curr Opin Hematol. 2019;26(1):41-50.

99. Vapaatalo H, Mervaala E. Clinically important factors influencing endothelial function. Med Sci Monit. 2001;7(5):1075-85.

100. Nadar S, Blann AD, Lip GY. Endothelial dysfunction: methods of assessment and application to hypertension. Curr Pharm Des. 2004;10(29):3591-605.

101. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). N Engl J Med. 1992;326(4):242-50.

102. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (2). N Engl J Med. 1992;326(5):310-8.

103. Katz SD, Biasucci L, Sabba C, Strom JA, Jondeau G, Galvao M, et al. Impaired endothelium-mediated vasodilation in the peripheral vasculature of patients with congestive heart failure. J Am Coll Cardiol. 1992;19(5):918-25.

104. Kubo SH, Rector TS, Bank AJ, Williams RE, Heifetz SM. Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure. Circulation. 1991;84(4):1589-96.

105. Zuchi C, Tritto I, Carluccio E, Mattei C, Cattadori G, Ambrosio G. Role of endothelial dysfunction in heart failure. Heart Fail Rev. 2020;25(1):21-30.

106. Marti CN, Gheorghiade M, Kalogeropoulos AP, Georgiopoulou VV, Quyyumi AA, Butler J. Endothelial dysfunction, arterial stiffness, and heart failure. J Am Coll Cardiol. 2012;60(16):1455-69.

107. López Farré A, Casado S. Heart failure, redox alterations, and endothelial dysfunction. Hypertension. 2001;38(6):1400-5.

108. Katz SD. Mechanisms and implications of endothelial dysfunction in congestive heart failure. Curr Opin Cardiol. 1997;12(3):259-64.

109. Bauersachs J, Schäfer A. Endothelial dysfunction in heart failure: mechanisms and therapeutic approaches. Curr Vasc Pharmacol. 2004;2(2):115-24.

110. Sharma R, Davidoff MN. Oxidative stress and endothelial dysfunction in heart failure. Congest Heart Fail. 2002;8(3):165-72.

111. Tousoulis D, Charakida M, Stefanadis C. Inflammation and endothelial dysfunction as therapeutic targets in patients with heart failure. Int J Cardiol. 2005;100(3):347-53.

112. Chong AY, Freestone B, Patel J, Lim HS, Hughes E, Blann AD, et al. Endothelial activation, dysfunction, and damage in congestive heart failure and the relation to brain natriuretic peptide and outcomes. Am J Cardiol. 2006;97(5):671-5.

113. Migliacci R, Becattini C, Pesavento R, Davi G, Vedovati MC, Guglielmini G, et al. Endothelial dysfunction in patients with spontaneous venous thromboembolism. Haematologica. 2007;92(6):812-8.

114. Lip GY, Gibbs CR. Does heart failure confer a hypercoagulable state? Virchow's triad revisited. J Am Coll Cardiol. 1999;33(5):1424-6.

115. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. Eur Heart J. 2021;42(36):3599-726.

116. Wojnicz R, Nowak J, Szyguła-Jurkiewicz B, Wilczek K, Lekston A, Trzeciak P, et al. Adjunctive therapy with low-molecular-weight heparin in patients with chronic heart failure secondary to dilated cardiomyopathy: one-year follow-up results of the randomized trial. Am Heart J. 2006;152(4):713.e1-7.

117. De Lorenzo F, Newberry D, Scully M, Kadziola Z, Dawson G, Ranlall N, et al. Low molecular weight heparin (bemiparin sodium) and the coagulation profile of patients with heart failure. Am Heart J. 2002;143(4):689.

118. Targonski R, Sadowski J, Cyganski PA. Impact of anticoagulation on the effectiveness of loop diuretics in heart failure with cardiorenal syndrome and venous thromboembolism. Blood Coagul Fibrinolysis. 2014;25(2):180-2.

119. Poredos P, Jezovnik MK. Testing endothelial function and its clinical relevance. J Atheroscler Thromb. 2013;20(1):1-8.

120. Shantsila E, Lip GY. The risk of thromboembolism in heart failure: does it merit anticoagulation therapy? Am J Cardiol. 2011;107(4):558-60.

121. O'Rourke MF, Pauca A, Jiang XJ. Pulse wave analysis. Br J Clin Pharmacol. 2001;51(6):507-22.

122. Cohn JN, Finkelstein S, McVeigh G, Morgan D, LeMay L, Robinson J, et al. Noninvasive pulse wave analysis for the early detection of vascular disease. Hypertension. 1995;26(3):503-8.

123. Lloyd-Jones DM, Larson MG, Leip EP, Beiser A, D'Agostino RB, Kannel WB, et al. Lifetime risk for developing congestive heart failure: the Framingham Heart Study. Circulation. 2002;106(24):3068-72.

124. Lam CSP, Arnott C, Beale AL, Chandramouli C, Hilfiker-Kleiner D, Kaye DM, et al. Sex differences in heart failure. Eur Heart J. 2019;40(47):3859-68c.

125. Stolfo D, Uijl A, Vedin O, Strömberg A, Faxén UL, Rosano GMC, et al. Sex-Based Differences in Heart Failure Across the Ejection Fraction Spectrum: Phenotyping, and Prognostic and Therapeutic Implications. JACC Heart Fail. 2019;7(6):505-15.

126. Savarese G, Becher PM, Lund LH, Seferovic P, Rosano GMC, Coats AJS. Global burden of heart failure: a comprehensive and updated review of epidemiology. Cardiovasc Res. 2023;118(17):3272-87.

127. Lang CC, Mancini DM. Non-cardiac comorbidities in chronic heart failure. Heart. 2007;93(6):665-71.

128. Matsue Y, Suzuki M, Nakamura R, Abe M, Ono M, Yoshida S, et al. Prevalence and prognostic implications of pre-diabetic state in patients with heart failure. Circ J. 2011;75(12):2833-9.

129. Lehrke M, Marx N. Diabetes Mellitus and Heart Failure. Am J Med. 2017;130(6S):S40-S50.

130. Çağlı K, Başar FN, Tok D, Turak O, Başar Ö. How to interpret liver function tests in heart failure patients? Turk J Gastroenterol. 2015;26(3):197-203.

131. Rywik TM, Janas J, Klisiewicz A, Leszek P, Sobieszczańska-Małek M, Kurjata P, et al. Prognostic value of novel biomarkers compared with detailed biochemical evaluation in patients with heart failure. Pol Arch Med Wewn. 2015;125(6):434-42.

132. Allen LA, Felker GM, Mehra MR, Chiong JR, Dunlap SH, Ghali JK, et al. Validation and potential mechanisms of red cell distribution width as a prognostic marker in heart failure. J Card Fail. 2010;16(3):230-8.

133. Sîrbu O, Floria M, Dascalita P, Stoica A, Adascalitei P, Sorodoc V, et al. Anemia in heart failure - from guidelines to controversies and challenges. Anatol J Cardiol. 2018;20(1):52-9.

134. Karagodin I, Kalantari S, Yu DB, Kim G, Sayer G, Addetia K, et al. Echocardiographic evaluation of the effects of sacubitril-valsartan on vascular properties in heart failure patients. Int J Cardiovasc Imaging. 2020;36(2):271-8.

135. Shah A, Gkaliagkousi E, Ritter JM, Ferro A. Endothelial function and arterial compliance are not impaired in subjects with heart failure of non-ischemic origin. J Card Fail. 2010;16(2):114-20.

136. Alem MM. Endothelial Dysfunction in Chronic Heart Failure: Assessment, Findings, Significance, and Potential Therapeutic Targets. Int J Mol Sci. 2019;20(13).

137. Klosinska M, Rudzinski T, Grzelak P, Stefanczyk L, Drozdz J, Krzeminska-Pakula M. Endothelium-dependent and -independent vasodilation is more attenuated in ischaemic than in non-ischaemic heart failure. Eur J Heart Fail. 2009;11(8):765-70.

138. Heiss C, Rodriguez-Mateos A, Bapir M, Skene SS, Sies H, Kelm M. Flow-mediated dilation reference values for evaluation of endothelial function and cardiovascular health. Cardiovasc Res. 2022.

139. Duprez DA, Jacobs DR, Lutsey PL, Bluemke DA, Brumback LC, Polak JF, et al. Association of small artery elasticity with incident cardiovascular disease in older adults: the multi-ethnic study of atherosclerosis. Am J Epidemiol. 2011;174(5):528-36.

140. Rywik TM, Doryńska A, Wiśniewska A, Cegłowska U, Drohomirecka A, Topór-Mądry R, et al. Epidemiology and clinical characteristics of hospitalized patients with heart failure with reduced, mildly reduced, and preserved ejection fraction. Pol Arch Intern Med. 2022;132(5).

141. Linde C, Ekström M, Eriksson MJ, Maret E, Wallén H, Lyngå P, et al. Baseline characteristics of 547 new onset heart failure patients in the PREFERS heart failure study. ESC Heart Fail. 2022;9(4):2125-38.

142. El Hajj MC, Viray MC, Tedford RJ. Right Heart Failure: A Hemodynamic Review. Cardiol Clin. 2020;38(2):161-73.

143. Kim JH, Shah P, Tantry US, Gurbel PA. Coagulation Abnormalities in Heart Failure: Pathophysiology and Therapeutic Implications. Curr Heart Fail Rep. 2016;13(6):319-28.

144. Chong AY, Freestone B, Lim HS, Kistorp C, Gustafsson F, Hildebrandt P, et al. Plasma von Willebrand factor and soluble E-selectin levels in stable outpatients with systolic heart failure: the Frederiksberg heart failure study. Int J Cardiol. 2007;119(1):80-2.

145. Kielstein JT, Bode-Böger SM, Klein G, Graf S, Haller H, Fliser D. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors and renal perfusion in patients with heart failure. Eur J Clin Invest. 2003;33(5):370-5.

146. Vila V, Sales VM, Almenar L, Lázaro IS, Villa P, Reganon E. Effect of oral anticoagulant therapy on thrombospondin-1 and von Willebrand factor in patients with stable heart failure. Thromb Res. 2008;121(5):611-5.

147. Cacoub P, Karmochkine M, Dorent R, Nataf P, Piette JC, Godeau P, et al. Plasma levels of thrombomodulin in pulmonary hypertension. Am J Med. 1996;101(2):160-4.

148. Lin SM, Chang CH, Lin TY, Huang AC, Lin CH, Chen YC, et al. Plasma thrombomodulin levels are associated with acute kidney injury in patients with acute heart failure. Ann Med. 2022;54(1):3169-76.

149. Popovic B, Zannad F, Louis H, Clerc-Urmès I, Lakomy C, Gibot S, et al. Endothelial-driven increase in plasma thrombin generation characterising a new hypercoagulable phenotype in acute heart failure. Int J Cardiol. 2019;274:195-201.

150. Lattenist L, Jansen MP, Teske G, Claessen N, Meijers JC, Rezaie AR, et al. Activated protein C protects against renal ischaemia/reperfusion injury, independent of its anticoagulant properties. Thromb Haemost. 2016;116(1):124-33.

151. Jug B, Vene N, Salobir BG, Sebestjen M, Sabovic M, Keber I. Prognostic impact of haemostatic derangements in chronic heart failure. Thromb Haemost. 2009;102(2):314-20.

152. Chen YW, Chen YC, Fu TC, Wang CH, Huang SC, Wang JS. Anemic comorbidity reduces capacity of endogenous thrombin generation and is associated with consumptive coagulopathy in patients with heart failure. Int J Cardiol. 2013;168(5):4965-7.

153. Majeed F, Kop WJ, Poston RS, Kallam S, Mehra MR. Prospective, observational study of antiplatelet and coagulation biomarkers as predictors of thromboembolic events after implantation of ventricular assist devices. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2009;6(2):147-57.

154. Ishigaki T, Yoshida T, Okuno H, Fujisawa Y, Shimizu S, Isogawa S, et al. Prothrombin fragment 1+2 as a sensitive marker of intraventricular thrombus formation in a patient with dilated cardiomyopathy: comparison with echocardiography. J Echocardiogr. 2013;11(1):29-31.

155. Reichart D, Magnussen C, Zeller T, Blankenberg S. Dilated cardiomyopathy: from epidemiologic to genetic phenotypes: A translational review of current literature. J Intern Med. 2019;286(4):362-72.

156. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, et al. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. Lancet. 2005;366(9497):1640-9.

157. He WJ, Hu Y, Zhang XP, Hong M, Guo T, Wei WN, et al. Activated protein C ratio, plasma tissue factor activity and activated factor VII in Chinese patients with coronary heart disease. Eur J Med Res. 2008;13(2):47-51.

158. Griffin JH, Mosher DF, Zimmerman TS, Kleiss AJ. Protein C, an antithrombotic protein, is reduced in hospitalized patients with intravascular coagulation. Blood. 1982;60(1):261-4.

159. Tütün U, Ulus AT, Aksöyek A, Kaplan S, Ayaz S, Yilmaz S, et al. Protein C, S and antithrombin III levels in patients with acute mechanical valve thrombosis. Panminerva Med. 2002;44(4):359-63.

160. Franchini M, Martinelli I, Mannucci PM. Uncertain thrombophilia markers. Thromb Haemost. 2016;115(1):25-30.

161. Cho YP, Lee DH, Jang HJ, Kim JS, Han MS, Lee SG. Peripheral arterial insufficiency associated with protein C deficiency. Br J Radiol. 2002;75(898):843-6.

162. Cho YP, Kwon TW, Ahn JH, Kang GH, Han MS, Kim YH, et al. Protein C and/or S deficiency presenting as peripheral arterial insufficiency. Br J Radiol. 2005;78(931):601-5.

163. Ren D, Giri H, Li J, Rezaie AR. The Cardioprotective Signaling Activity of Activated Protein C in Heart Failure and Ischemic Heart Diseases. Int J Mol Sci. 2019;20(7).

164. Psuja P, Lewandowski K, Turowiecka Z, Zozulińska M, Tokarz A, Zawilska K. Fluctuation of thrombin-antithrombin III complex in patients with acute myocardial infarction: influence of low-dose heparin administration. Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch. 1990;117(2):229-36.

165. Szczeklik A, Dropinski J, Radwan J, Krzanowski M. Persistent generation of thrombin after acute myocardial infarction. Arterioscler Thromb. 1992;12(5):548-53.

166. Rezaie AR, Giri H. Anticoagulant and signaling functions of antithrombin. J Thromb Haemost. 2020;18(12):3142-53.

167. Cortellaro M. Antithrombin III and arterial disease. The PLAT Study Group. Lancet. 1991;338(8781):1525-6.

168. Marcucci R, Gori AM, Giannotti F, Baldi M, Verdiani V, Del Pace S, et al. Markers of hypercoagulability and inflammation predict mortality in patients with heart failure. J Thromb Haemost. 2006;4(5):1017-22.

169. Jafri SM, Ozawa T, Mammen E, Levine TB, Johnson C, Goldstein S. Platelet function, thrombin and fibrinolytic activity in patients with heart failure. Eur Heart J. 1993;14(2):205-12.

170. Komatsumoto S, Onoda A, Nara M. [Changes in the level of thrombomodulin with aging]. Nihon Ronen Igakkai Zasshi. 1996;33(7):512-7.

171. Jacobs A, Schutte AE, Ricci C, Pieters M. Plasminogen activator inhibitor-1 activity and the 4G/5G polymorphism are prospectively associated with blood pressure and hypertension status. J Hypertens. 2019;37(12):2361-70.

172. Jacobs A, Pieters M, Schutte AE. The association of PAI-1 with 24 h blood pressure in young healthy adults is influenced by smoking and alcohol use: The African-PREDICT study. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2020;30(11):2063-71.

173. Peng H, Yeh F, de Simone G, Best LG, Lee ET, Howard BV, et al. Relationship between plasma plasminogen activator inhibitor-1 and hypertension in American Indians: findings from the Strong Heart Study. J Hypertens. 2017;35(9):1787-93.

174. Diebold I, Kraicun D, Bonello S, Görlach A. The 'PAI-1 paradox' in vascular remodeling. Thromb Haemost. 2008;100(6):984-91.

175. Ismail AA, Shaker BT, Bajou K. The Plasminogen-Activator Plasmin System in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis. Int J Mol Sci. 2021;23(1).

176. Agirbasli M. Pivotal role of plasminogen-activator inhibitor 1 in vascular disease. Int J Clin Pract. 2005;59(1):102-6.

177. Huang X, Liu J, Hu S, Zhang L, Miao F, Tian A, et al. Systolic blood pressure at admission and long-term clinical outcomes in patients hospitalized for heart failure. ESC Heart Fail. 2021;8(5):4007-17.

178. Michalska M, Iwan-Ziętek I, Gniłka W, Dąbrowiecki S, Góralczyk B, Góralczyk K, et al. PAI-1 and α2-AP in patients with morbid obesity. Adv Clin Exp Med. 2013;22(6):801-7.

179. Solá E, Navarro S, Medina P, Vayá A, Estellés A, Hernández-Mijares A, et al. Activated protein C levels in obesity and weight loss influence. Thromb Res. 2009;123(5):697-700.

180. Duque P, Mora L, Levy JH, Schöchl H. Pathophysiological Response to Trauma-Induced Coagulopathy: A Comprehensive Review. Anesth Analg. 2020;130(3):654-64.

181. Donders SH, Lustermans FA, van Wersch JW. Prothrombin fragment 1.2 in both treated and untreated hypertensive patients. Neth J Med. 1993;43(3-4):174-8.

182. Gombos T, Makó V, Cervenak L, Papassotiriou J, Kunde J, Hársfalvi J, et al. Levels of von Willebrand factor antigen and von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) activity predict clinical events in chronic heart failure. Thromb Haemost. 2009;102(3):573-80.

183. Chong AY, Blann AD, Patel J, Freestone B, Hughes E, Lip GY. Endothelial dysfunction and damage in congestive heart failure: relation of flow-mediated dilation to circulating endothelial cells, plasma indexes of endothelial damage, and brain natriuretic peptide. Circulation. 2004;110(13):1794-8.

184. Murphy SP, Kakkar R, McCarthy CP, Januzzi JL. Inflammation in Heart Failure: JACC State-of-the-Art Review. J Am Coll Cardiol. 2020;75(11):1324-40.

185. Colombo PC, Doran AC, Onat D, Wong KY, Ahmad M, Sabbah HN, et al. Venous congestion, endothelial and neurohormonal activation in acute decompensated heart failure: cause or effect? Curr Heart Fail Rep. 2015;12(3):215-22.

186. Cates C, Rousselle T, Wang J, Quan N, Wang L, Chen X, et al. Activated protein C protects against pressure overload-induced hypertrophy through AMPK signaling. Biochem Biophys Res Commun. 2018;495(4):2584-94.

187. Mullens W, Damman K, Testani JM, Martens P, Mueller C, Lassus J, et al. Evaluation of kidney function throughout the heart failure trajectory - a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. Eur J Heart Fail. 2020;22(4):584-603.

188. Dries DL, Exner DV, Domanski MJ, Greenberg B, Stevenson LW. The prognostic implications of renal insufficiency in asymptomatic and symptomatic patients with left ventricular systolic dysfunction. J Am Coll Cardiol. 2000;35(3):681-9.

189. Ross EA. Congestive renal failure: the pathophysiology and treatment of renal venous hypertension. J Card Fail. 2012;18(12):930-8.

190. Cody RJ, Atlas SA, Laragh JH, Kubo SH, Covit AB, Ryman KS, et al. Atrial natriuretic factor in normal subjects and heart failure patients. Plasma levels and renal, hormonal, and hemodynamic responses to peptide infusion. J Clin Invest. 1986;78(5):1362-74.

191. Hillege HL, Girbes AR, de Kam PJ, Boomsma F, de Zeeuw D, Charlesworth A, et al. Renal function, neurohormonal activation, and survival in patients with chronic heart failure. Circulation. 2000;102(2):203-10.

192. Zahran M, Nasr FM, Metwaly AA, El-Sheikh N, Khalil NS, Harba T. The Role of Hemostatic Factors in Atherosclerosis in Patients with Chronic Renal Disease. Electron Physician. 2015;7(5):1270-6.

193. Drożdż D, Łątka M, Drożdż T, Sztefko K, Kwinta P. Thrombomodulin as a New Marker of Endothelial Dysfunction in Chronic Kidney Disease in Children. Oxid Med Cell Longev. 2018;2018:1619293.

194. Huang MJ, Wei RB, Wang Y, Su TY, Di P, Li QP, et al. Blood coagulation system in patients with chronic kidney disease: a prospective observational study. BMJ Open. 2017;7(5):e014294.

195. Roelofs JJ, Rouschop KM, Leemans JC, Claessen N, de Boer AM, Frederiks WM, et al. Tissue-type plasminogen activator modulates inflammatory responses and renal function in ischemia reperfusion injury. J Am Soc Nephrol. 2006;17(1):131-40.

196. Lutz J, Menke J, Sollinger D, Schinzel H, Thürmel K. Haemostasis in chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant. 2014;29(1):29-40.

197. de Peuter OR, Kok WE, Torp-Pedersen C, Büller HR, Kamphuisen PW. Systolic heart failure: a prothrombotic state. Semin Thromb Hemost. 2009;35(5):497-504.

198. Wang RR, He M, Ou XF, Xie XQ, Kang Y. The predictive value of RDW in AKI and mortality in patients with traumatic brain injury. J Clin Lab Anal. 2020;34(9):e23373.

199. Förhécz Z, Gombos T, Borgulya G, Pozsonyi Z, Prohászka Z, Jánoskuti L. Red cell distribution width in heart failure: prediction of clinical events and relationship with markers of ineffective erythropoiesis, inflammation, renal function, and nutritional state. Am Heart J. 2009;158(4):659-66.

200. Hsu CP, Lin SJ, Chung MY, Lu TM. Asymmetric dimethylarginine predicts clinical outcomes in ischemic chronic heart failure. Atherosclerosis. 2012;225(2):504-10.

201. Radenkovic M, Stojanovic M, Prostran M. Endothelial Dysfunction in Renal Failure: Current Update. Curr Med Chem. 2016;23(19):2047-54.

202. Stam F, van Guldener C, Schalkwijk CG, ter Wee PM, Donker AJ, Stehouwer CD. Impaired renal function is associated with markers of endothelial dysfunction and increased inflammatory activity. Nephrol Dial Transplant. 2003;18(5):892-8.

203. Zannad F, Rossignol P. Cardiorenal Syndrome Revisited. Circulation. 2018;138(9):929-44.

204. Damman K, Testani JM. The kidney in heart failure: an update. Eur Heart J. 2015;36(23):1437-44.

205. Kincaid-Smith P. Coagulation and renal disease. Kidney Int. 1972;2(4):183-90.

206. Whitaker AN, McKay DG. Studies of catecholamine shock. I. Disseminated intravascular coagulation. Am J Pathol. 1969;56(2):153-76.

207. Urban S, Błaziak M, Jura M, Iwanek G, Ponikowska B, Horudko J, et al. Machine Learning Approach to Understand Worsening Renal Function in Acute Heart Failure. Biomolecules. 2022;12(11).

208. Krum H. Sympathetic activation and the role of beta-blockers in chronic heart failure. Aust N Z J Med. 1999;29(3):418-27.

209. Fischer D, Rossa S, Landmesser U, Spiekermann S, Engberding N, Hornig B, et al. Endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure is independently associated with increased incidence of hospitalization, cardiac transplantation, or death. Eur Heart J. 2005;26(1):65-9.

210. Meyer B, Mörtl D, Strecker K, Hülsmann M, Kulemann V, Neunteufl T, et al. Flow-mediated vasodilation predicts outcome in patients with chronic heart failure: comparison with B-type natriuretic peptide. J Am Coll Cardiol. 2005;46(6):1011-8.

211. Heitzer T, Baldus S, von Kodolitsch Y, Rudolph V, Meinertz T. Systemic endothelial dysfunction as an early predictor of adverse outcome in heart failure. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005;25(6):1174-9.

212. Beggs SAS, Rørth R, Gardner RS, McMurray JJV. Anticoagulation therapy in heart failure and sinus rhythm: a systematic review and meta-analysis. Heart. 2019;105(17):1325-34.

213. Hopper I, Skiba M, Krum H. Updated meta-analysis on antithrombotic therapy in patients with heart failure and sinus rhythm. Eur J Heart Fail. 2013;15(1):69-78.

214. Al-Khadra AS, Salem DN, Rand WM, Udelson JE, Smith JJ, Konstam MA. Warfarin anticoagulation and survival: a cohort analysis from the Studies of Left Ventricular Dysfunction. J Am Coll Cardiol. 1998;31(4):749-53.

215. Mujib M, Rahman AA, Desai RV, Ahmed MI, Feller MA, Aban I, et al. Warfarin use and outcomes in patients with advanced chronic systolic heart failure without atrial fibrillation, prior thromboembolic events, or prosthetic valves. Am J Cardiol. 2011;107(4):552-7.

216. Sampson UK, Pfeffer MA, McMurray JJ, Lokhnygina Y, White HD, Solomon SD, et al. Predictors of stroke in high-risk patients after acute myocardial infarction: insights from the VALIANT Trial. Eur Heart J. 2007;28(6):685-91.

217. Zannad F, Anker SD, Byra WM, Cleland JGF, Fu M, Gheorghiade M, et al. Rivaroxaban in Patients with Heart Failure, Sinus Rhythm, and Coronary Disease. N Engl J Med. 2018;379(14):1332-42.

218. Mehra MR, Vaduganathan M, Fu M, Ferreira JP, Anker SD, Cleland JGF, et al. A comprehensive analysis of the effects of rivaroxaban on stroke or transient ischaemic

attack in patients with heart failure, coronary artery disease, and sinus rhythm: the COMMANDER HF trial. Eur Heart J. 2019;40(44):3593-602.

219. Homma S, Thompson JL, Pullicino PM, Levin B, Freudenberger RS, Teerlink JR, et al. Warfarin and aspirin in patients with heart failure and sinus rhythm. N Engl J Med. 2012;366(20):1859-69.

220. Cokkinos DV, Haralabopoulos GC, Kostis JB, Toutouzas PK, investigators H. Efficacy of antithrombotic therapy in chronic heart failure: the HELAS study. Eur J Heart Fail. 2006;8(4):428-32.

221. Gheorghiade M, Thyssen A, Zolynas R, Nadar VK, Greenberg BH, Mehra M, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban and its effect on biomarkers of hypercoagulability in patients with chronic heart failure. J Heart Lung Transplant. 2011;30(2):218-26.

222. Hai JJ, Chan PH, Chan YH, Fong CH, Huang D, Li WH, et al. Prediction of Thromboembolic Events in Heart Failure Patients in Sinus Rhythm: The Hong Kong Heart Failure Registry. PLoS One. 2016;11(12):e0169095.