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

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:**

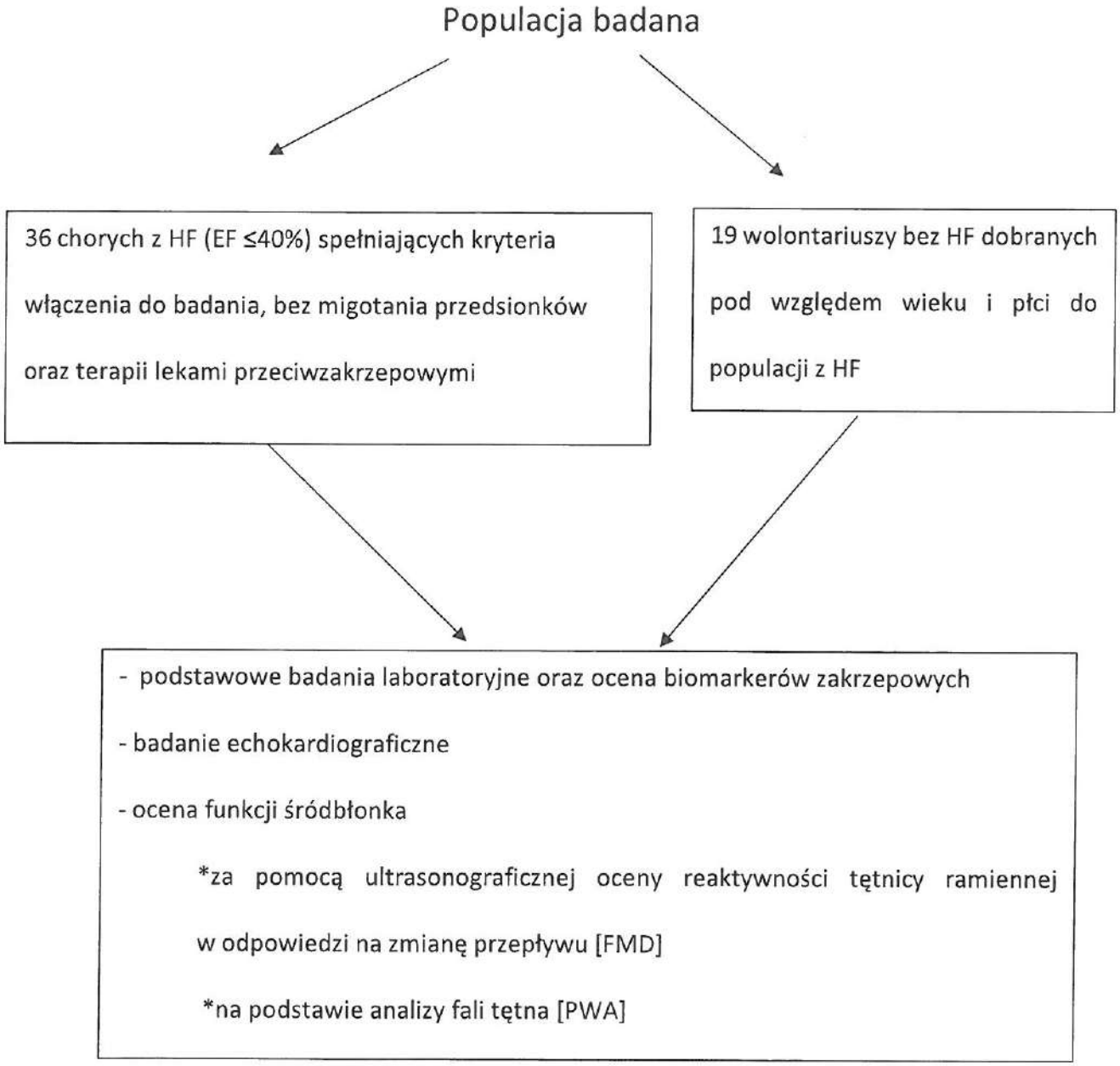
1. Ocena wybranych biomarkerów krzepnięcia i funkcji śródbłonka w populacji chorych z HF oraz ocena ich korelacji z parametrami biochemicznymi, hemodynamicznymi i echokardiograficznymi.
2. Porównanie wybranych biomarkerów zakrzepowych pomiędzy grupą badaną z HF, a grupą kontrolną bez HF.
3. Identyfikacja 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.

Paulina Potaska