

1. Streszczenie

Wstęp

Choroba wieńcowa jest jedną z głównych przyczyną zgonów pacjentów na całym świecie. Pomimo, że częstość występowania zawału serca z przetrwałym uniesieniem odcinka ST (STEMI) systematycznie spada stanowi on nadal duży odsetek chorych przyjmowanych w trybie pilnym do oddziałów kardiologicznych. Istotnym czynnikiem pogarszającym rokowanie pacjentów ze STEMI jest zjawisko upośledzonej reperfuzji tkankowej (*no-reflow phenomenon*). Wśród czynników predysponujących do wystąpienia tego niekorzystnego zjawiska wymienia się między innymi przednią lokalizację zawału serca, dłuższy czas niedokrwienia, wiek pacjenta, zaburzenia gospodarki lipidowej i węglowodanowej. Patomechanizm „*no-reflow*” jest złożony. Metody służące rozpoznaniu upośledzonej reperfuzji tkankowej obejmują ocenę elektrokardiograficzną (stopień normalizacji odcinka ST), skale angiograficzne (TIMI, TMPG, MBG, cTFC), bezpośredni pomiar inwazyjny (CFR), echokardiografię kontrastową oraz rezonans magnetyczny serca.

Płytki krwi odgrywają ważną rolę w patomechanizmie tego zjawiska. Z badań wynika, że stosowanie abciksamabu podczas pPCI jest związane z lepszą perfuzją w mikrokrażeniu w porównaniu z grupą kontrolną. Stosowanie wysokiej dawki nasycającej kłopidogrelu w warunkach przedszpitalnych redukuje częstość występowania zjawiska „*no-reflow*”. Oporność na kłopidogrel i kwas acetylosalicylowy, może przyczynić się do nadmiernej aktywacji płytek krwi i prowadzić do zaburzeń przepływu w mikrokrażeniu po reperfuzji nasierdziejowej.

Czynnik wzrostu i różnicowania 15 (GDF-15) należy do rodziny transformujących czynników wzrostu beta (TGF-B). Jest on negatywnym czynnikiem prognostycznym u pacjentów z niewydolnością serca, jego wysokie stężenie koreluje z roczną śmiertelnością u chorych po przebytych zawale serca z przetrwałym uniesieniem odcinka ST. W chwili obecnej brak jest klinicznych doniesień naukowych na temat wpływu GDF-15 na zaburzenia reperfuzji tkankowej u chorych z zawałem serca.

Cel pracy

1. Ocena reaktywności płytek krwi w trakcie leczenia podwójną terapią przeciwplatekową u pacjentów z zawałem serca STEMI leczonych pierwotną angioplastyką wieńcową i jej wpływ na częstość występowania zjawiska upośledzonej reperfuzji tkankowej.
2. Próba ustalenia optymalnej metody oceny zjawiska „no-reflow”.
3. Wyodrębnienie czynników klinicznych i biochemicznych predysponujących do wystąpienia zjawiska upośledzonej reperfuzji tkankowej.
4. Ocena wpływu stężenia GDF-15 na częstość występowania zjawiska „no-reflow”.
5. Identyfikacja czynników ryzyka rocznej śmiertelności pacjentów skutecznie leczonych pierwotną angioplastyką wieńcową.

Materiał i metody

Prezentowane badanie jest prospektywną analizą pacjentów przyjmowanych w trybie pilnym do Kliniki Kardiologii Inwazyjnej w Białymstoku z rozpoznaniem zawału serca z przetrwałym uniesieniem odcinka ST. Badaniem zostało objętych 100 chorych poddanych skutecznej pierwotnej angioplastyce tętnicy dozwłowej.

Kryteria włączenia do badania stanowiły: wiek powyżej 18 lat, ból zwałowy trwający > 20 minut < 24 godziny, uniesienie odcinka ST powyżej $0,1$ mV w przynajmniej dwóch sąsiadujących odprowadzeniach kończynowych, V4-V6 lub $\geq 0,2$ mV u mężczyzn ≥ 40 . r.ż.; $\geq 0,25$ mV u mężczyzn < 40 . r.ż. i $\geq 0,15$ mV u kobiet w odprowadzeniach V2-V3, zastosowanie dawki nasycającej 600 mg kłopidogrelu, podpisanie pisemnej zgody na badanie.

Z badania wykluczały: wstrząs kardiogeny, istotne zwężenie rezydualne lub dyssekcja tętnicy po angioplastyce, zaburzenia przewodnictwa śródkomorowego uniemożliwiające ocenę odcinka ST, stymulacja serca, przyjmowanie digoksyny, przewlekła podwójna terapia przeciwplatekowa (DAPT) przed włączeniem do badania, zastosowanie inhibitora GP IIb/IIIa przed pobraniem krwi do badania, zastosowanie prasugrelu lub tikagreloru, brak zgody na badanie.

Analizie poddano zapisy elektrokardiograficzne z przyjęcia oraz wykonane ok. 60 minut po skutecznym zabiegu pPCI. Ocenę normalizacji odcinka ST przeprowadzono w odprowadzeniu z największym początkowym uniesieniem odcinka ST.

Dokładnej ocenie poddano obraz angiograficzny z wykorzystaniem skal perfuzji tkankowej (TIMI, MGB, cTFC), zaawansowania zmian miażdżycowych (SYNTAX score) oraz przebieg zabiegu ze szczególnym uwzględnieniem wykorzystanych technik interwencyjnych.

W chwili przyjęcia oraz w 5 dobie hospitalizacji pobrano krew na hirudynę w celu oznaczenia reaktywności agregacyjnej płytek krwi indukowanej przez adenozynodifosforan (ADP) oraz kwas arachidonowy (AA). Badanie zostało przeprowadzone za pomocą urządzenia Multiplate Analyzer (Roche) z wykorzystaniem ASPItest (ocena zahamowania agregacji płytek krwi przez kwas acetylosalicylowy) i ADPtest (ocena zahamowania agregacji płytek krwi przez inhibitory receptora P2Y₁₂).

W chwili przyjęcia do szpitala dodatkowo pobrano 10 ml krwi do próbówki z aktywatorem w celu pozyskania surowicy, a następnie odwirowano (10 minut; 3500 x g). Materiał przechowywano w temperaturze - 80 st. C. do czasu oznaczenia stężenia GDF-15 (Human GDF-15 Immunoassay; Quantikine).

W celu pozyskania danych na temat rocznej śmiertelności przeprowadzono rozmowę telefoniczną lub rozmowy z bliskimi pacjenta. Brakujące dane uzupełniono z zasobów bazy danych osobowych (PESEL).

Szczegółową analizą objęto standardowo oznaczane parametry biochemiczne, badanie echokardiograficzne, ocenę kliniczną oraz ocenę parametrów o udowodnionym znaczeniu rokowniczym.

Wyniki

Ocena reperfuzji tkankowej

Oceniono angiograficzne skale upośledzonej reperfuzji tkankowej oraz rezolucję odcinka ST w zapisie elektrokardiograficznym po skutecznym zabiegu pPCI pod względem ich wartości predykcyjnej w szacowaniu ryzyka zgonu w rocznej obserwacji. Spośród skal angiograficznym TIMI < 3 i cTFC > 27 klatek były istotnymi statystycznie czynnikami ryzyka śmiertelności w analizie jednoczynnikowej regresji logistycznej. Natomiast w ocenie stopnia rezolucji odcinka ST, wartość < 50% wyjściowego uniesienia stanowiła predyktor złego rokowania. Łączona ocena w skali angiograficznej i elektrokardiograficznej (TIMI < 3 lub brak rezolucji odcinka ST o 50%) najlepiej przewidywała ryzyko zgonu i z tego powodu została wybrana jako definicja „no-reflow”. Tak definiowane zjawisko upośledzonej reperfuzji tkankowej wystąpiło u 39% (n=39) badanych pacjentów. W wieloczynnikowej krokowej

postępującej regresji logistycznej jedynie przepływ w tętnicy dozawałowej po pPCI TIMI < 3 był niezależnym czynnikiem ryzyka rocznej śmiertelności.

Czynniki wpływające na upośledzoną reperfuzję tkankową

Pacjenci, u których wystąpiło zjawisko „no-reflow” charakteryzowali się starszym wiekiem, wyższą częstością rytmu serca i niższym skurczowym ciśnieniem tętniczym w chwili przyjęcia, niższą frakcją wyrzutową lewej komory, częściej prezentowali przednią lokalizację zawału serca, wywiad przewlekłej choroby nerek, rzadziej palili papierosy, częściej dochodziło u nich do powikłań zapalnych w trakcie hospitalizacji. Czas od początku bólu do interwencji oraz od pierwszego kontaktu medycznego do interwencji był istotnie statystycznie dłuższy. U chorych z upośledzoną reperfuzją tkankową istotnie częściej tętnicą odpowiedzialną za zawały był proksymalny odcinek gałęzi przedniej zstępującej, a punktacja w skali SYNTAX była wyższa. Znamienne częściej wykonywano u tych pacjentów predylatację tętnicy przed implantacją stentu. Spośród wyników badań laboratoryjnych chorzy ze zjawiskiem „no-reflow” mieli wyższe wartości markerów martwicy miokardium (cTn, CK, CK-MB) zarówno w chwili przyjęcia jak i maksymalne zanotowane podczas hospitalizacji. Charakteryzowali się niższą filtracją kłębuszkową oraz wyższym stężeniem fibrynogenu i kwasu moczowego. W analizie wieloczynnikowej regresji logistycznej niezależnymi czynnikami ryzyka zjawiska upośledzonej reperfuzji tkankowej były: dłuższy czas od wystąpienia objawów do interwencji, zawał przedni, predylatacja, niższa frakcja wyrzutowa lewej komory, wyższa aktywność CK-MB i stężenie fibrynogenu oraz niższe tętnicze ciśnienie skurczowe w chwili przyjęcia.

Wpływ zahamowania płytek krwi na częstość występowania zjawiska „no-reflow”

W całej badanej populacji nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w reaktywności płytek krwi indukowanej kwasem arachidonowym i adenozynodifosforanem w badanych grupach, zarówno ocenianej w chwili przyjęcia jak i w piątej dobie hospitalizacji. Po podziale populacji na podgrupy czasowe od początku dolegliwości do interwencji. W grupie z krótkim czasem „pain-to-balloon” (< 6 godzin) zaobserwowano znamienne wyższą reaktywność płytek krwi, hamowaną przez klopidoogrel, ocenianą w piątej dobie hospitalizacji u chorych z „no-reflow”. Pacjenci ci charakteryzowali się również mniejszym spadkiem reaktywności płytek krwi pomiędzy przyjęciem a piątą dobą hospitalizacji. W pozostałych podgrupach czasowych nie obserwowano znamienych statystycznie różnic między grupą z prawidłową i upośledzoną reperfuzją tkankową.

Stężenie GDF-15 w chwili przyjęcia a częstość występowania zjawiska „no-reflow”

Średnie stężenie GDF-15 było wyższe w grupie z upośledzoną reperfuzją tkankową. Różnica ta wykazywała wyraźny trend do istotności statystycznej ($p=0,07$). Z analizy pól pod krzywą ROC wyznaczono wartość $\geq 1498,65$ pg/ml będącą istotnym statystycznie czynnikiem ryzyka „no-reflow” w analizie jednoczynnikowej regresji logistycznej.

Czynniki ryzyka rocznej śmiertelności

Istotnymi statystycznie czynnikami ryzyka rocznej śmiertelności w analizie jednoczynnikowej były: płeć żeńska, starszy wiek, zawał przedni, niższa wartość w skali TIMI po zabiegu, niższa frakcja wyrzutowa lewej komory, wywiad choroby wieńcowej, niższa wartość GFR i tętniczego ciśnienia skurczowego w chwili przyjęcia, wyższe stężenie cTn i kwasu moczowego, wyższa częstość rytmu serca w chwili przyjęcia i po zabiegu skutecznej rewaskularyzacji, wyższe stężenie GDF-15. Z wyżej wymienionych czynników niezależnymi predyktorami zgonu, w analizie wieloczynnikowej, były starszy wiek, wyższa częstość rytmu serca w chwili przyjęcia oraz stężenie GDF-15 $\geq 3428,09$ pg/ml.

Wnioski

1. Złożona ocena braku rezolucji odcinka ST o 50% lub przepływ w tętnicy dozawałowej po pPCI TIMI < 3 jest prostą i najlepiej korelującą ze zgonem definicją zaburzonej reperfuzji tkankowej.
2. U chorych z krótkim czasem od początku bólu do rewaskularyzacji wysoka reaktywność płytek krwi w trakcie leczenia kłopidogrelem predysponuje do występowania zjawisko „no-reflow”.
3. Niezależnymi czynnikami ryzyka upośledzonej reperfuzji tkankowej po pierwotnej angioplastyce wieńcowej u pacjentów z zawałem serca są: czas od początku bólu do rewaskularyzacji, przednia lokalizacja zawału serca, predylatacja, wyższa aktywność CK-MB w chwili przyjęcia, niższe skurczowe ciśnienie tętnicze, niższa frakcja wyrzutowa lewej komory oraz wyższe stężenie fibrynogenu.
4. Stężenie GDF-15 $\geq 1498,65$ pg/ml w chwili przyjęcia predysponuje do występowania zjawiska „no-reflow”.
5. Niezależnymi czynnikami ryzyka zgonu w rocznej obserwacji są: starszy wiek, wyższa częstość rytmu serca oraz stężenie GDF-15 $\geq 3428,09$ pg/ml w surowicy krwi w chwili przyjęcia.

2. Summary

Introduction

Coronary artery disease is one of the leading causes of death worldwide. Regardless of the systematically decreasing prevalence of ST elevation myocardial infarction, the percentage of STEMI hospitalizations still remains high. The prognosis of patients has been significantly improved due to the development of cardiac catheterization labs, modern endovascular procedures and effective pharmacotherapy. According to the European registries in-hospital mortality ranges from 6 to 14%, and six-month mortality amounts to 12%.

One of the key factors worsening the prognosis of STEMI patients is “*no-reflow*” phenomenon. The condition is diagnosed when coronary revascularization fails in restoring reperfusion. Patients with “*no-reflow*” phenomenon have worse prognosis. They more frequently develop heart failure and have higher risk of mortality. Among factors predisposing to “*no-reflow*” phenomenon are anterior wall myocardial infarction, prolonged ischaemia, patient’s age, carbohydrate and lipid disorders. The pathomechanism of the phenomenon is complex. The methods for reperfusion assessment comprise ECG tracing (ST segment resolution), angiographic scores (TIMI, TMPG, MBG, cTFC), direct invasive assessment (CFR), contrast echocardiography and magnetic resonance imaging.

Platelets play a key role in the pathomechanism of “*no-reflow*” phenomenon. The studies reveal that administration of abciximab during pPCI is related with better microcirculation perfusion in comparison to the control group. High pre-hospital loading dose of clopidogrel reduces “*no-reflow*” prevalence. Clopidogrel and acetylsalicylic acid resistance may contribute to platelet hyperactivation and promotion of microcirculation disorders after reperfusion.

Growth and differentiation factor 15 (GDF-15) belongs to the family of transforming growth factors beta (TGF- β). It is considered as an autocrine inflammatory process inhibitor. Its activity depends on the type and state of the cell it affects. High GDF-15 serum concentration correlates with higher all-cause mortality in general population and is better mortality predictor comparing to CRP and NT-proBNP in older people. It is a negative prognostic factor in patients with heart failure and its high concentration correlates with 1-year mortality in post-STEMI patients. At the moment there is no clinical data concerning GDF-15 influence on reperfusion disorders in patients with myocardial infarction.

Aim

1. The assessment of platelet reactivity during dual antiplatelet therapy in STEMI patients treated with primary percutaneous angioplasty and its influence on the prevalence of impaired tissue reperfusion.
2. The attempt to establish an appropriate method for “no-reflow” phenomenon assessment.
3. Identification of clinical and biochemical factors predisposing to impaired tissue reperfusion.
4. The assessment of GDF-15 influence on the prevalence of “no-reflow” phenomenon.
5. Identification of risk factors for 1-year mortality of patients successfully treated with primary percutaneous angioplasty.

Material and methods

The presented study is a prospective analysis of patients with ST-elevation myocardial infarction /STEMI/ admitted to the Department of Invasive Cardiology of the Medical University of Białystok. 100 patients who underwent effective primary percutaneous coronary angioplasty of the infarct related artery were enrolled in the study.

The inclusion criteria were: >18 years of age, chest pain lasting > 20 minutes and < 24 hours, ST segment elevation above 0.1 mV in at least two contiguous leads, V4-V6 or ≥ 0.2 mV in men ≥ 40 years of age, and $\geq 0,25$ mV in men < 40 years of age, and ≥ 0.15 mV in women in leads V2-V3, the administration of 600mg loading dose of clopidogrel, and written informed consent for the participation in the study. The exclusion criteria were: cardiogenic shock, significant residual stenosis or artery dissection after angioplasty, intraventricular conduction disturbances complicating ST segment assessment, cardiac pacing, digoxin administration, chronic dual antiplatelet therapy before inclusion, GP IIb/IIIa administration prior blood sample collection, prasugrel or ticagrelor administration, and the lack of informed consent of the patient.

ECG performed on admission and 60 minutes post successful primary PCI were analyzed. The ST segment elevation resolution was assessed in the lead with initially the highest ST elevation.

Particular attention was given to the angiographic evaluation with the help of TIMI, MBG and cTFC scoring systems, the assessment of atherothrombotic lesions with SYNTAX score, and the course of the procedure with the description of the type of intervention.

Blood samples anticoagulated with hirudin were collected on admission and on day 5 in order to assess platelet aggregation reactivity induced with adenosine diphosphate (ADP) and arachidonic acid (AA). The analysis was conveyed with Multiplate Analyzer (Roche) with ASPtest (platelet aggregation inhibition with acetylosalicylic acid assessment) and ADPtest (platelet aggregation inhibition with P2Y₁₂ receptor inhibitors assessment). Additionally 10ml of blood was collected to the samples with activator in order to possess serum, followed with centrifugation (10mins; 3500 x g). Samples were stored in -80 Celsius degrees till GDF-15 assay (Human GDF-15 Immunoassay; Quantikine).

Data concerning 1-year mortality were possessed via phone contact with patients or members of patients' family. Missing data were completed with the help of personal ID numbers from Universal Electronic System of Population Register Number (PESEL).

The detailed analysis comprised standard biochemical parameters, echocardiography, clinical characteristics, and factors of proven prognostic significance.

Results

Tissue reperfusion assessment

Angiographic scoring systems of impaired tissue reperfusion and ST segment elevation resolution in ECG after effective pPCI were evaluated taking into consideration their predictive value in determining 1-year mortality risk. TIMI < 3 and cTFC > 27 frames were statistically significant mortality risk factors in univariate logistic regression analysis. However, the ST segment elevation resolution < 50% of the initial elevation constituted a predictor of worse prognosis. Cumulative assessment of angiographic and electrocardiographic scores (TIMI < 3 or ST segment elevation resolution < 50%) was the best in predicting mortality risk, hence it was selected for the definition of “no-reflow” phenomenon. “No-reflow” phenomenon was therefore diagnosed in 39% (n=39) cases. Multivariate logistic regression analysis showed that only TIMI < 3 was an independent 1-year mortality risk factor.

Factors affecting impaired tissue reperfusion

Patients with “no-reflow” phenomenon were older, had higher heart rate and lower systolic blood pressure on admission, lower left ventricle ejection fraction, more frequently

presented with anterior myocardial infarction, had chronic kidney failure, were less common smokers, however more often developed inflammatory complications during hospitalization. Time from pain onset to intervention and from first medical contact to intervention was statistically significantly longer. In patients with impaired tissue reperfusion the most common culprit lesion was proximal left anterior descending artery and SYNTAX score was higher. Predilation of artery before stent implantation was performed significantly more often. Patients with "no-reflow" phenomenon had higher concentrations of cardiac markers of myocardial necrosis (cTn, CK, CK-MB) on admission and during hospitalization (maximum concentrations). These patients had lower glomerular filtration rate and higher fibrinogen and uric acid concentrations. Multivariate regression analysis presented independent risk factors for impaired tissue reperfusion such as longer time interval from symptoms onset to intervention, anterior myocardial infarction, predilation, lower left ventricle ejection fraction, higher CK-MB and fibrinogen concentrations and lower systolic blood pressure on admission.

The influence of platelet inhibition on the prevalence of "no-reflow" phenomenon

There were no statistically significant differences in platelet reactivity induced with arachidonic acid and adenosine diphosphate in study groups on admission and on day 5. Further analysis of subgroups selected according to the time from symptoms onset to intervention showed that patients with short „pain-to-balloon” time (<6 hours) and “no-reflow” phenomenon had statistically significantly higher platelet reactivity inhibited by clopidogrel assessed on day 5. These subjects had lower decrease of platelet reactivity between admission and day 5 of hospitalization. No statistically significant differences between the groups with normal and impaired tissue perfusion were observed in other „pain-to-balloon” subgroups.

GDF-15 concentration on admission and the prevalence of no-reflow phenomenon.

Mean GDF-15 was higher in the group with impaired tissue reperfusion, with the tendency towards statistical significance ($p=0.07$). ROC analysis allowed to determine abscissa = 1498.65 pg/ml. It appeared to be a statistically significant “no-reflow” risk factor in univariate logistic regression analysis.

1-year mortality risk factors

Statistically significant 1-year death prognostic factors in a univariate analysis were female, older age, anterior myocardial infarction, lower TIMI flow after the procedure, lower left ventricle ejection fraction, history of coronary heart disease, lower GFR and systolic blood

pressure on admission, higher cTn and uric acid concentration, higher heart rate on admission and after effective revascularization, higher GDF-15 concentration. Among the aforementioned the independent mortality risk factors in multivariate analysis were: older age, higher heart rate on admission and GDF-15 concentration ≥ 3428.09 pg/ml.

Conclusions

1. The assessment of 50% ST - segment elevation resolution absence (STR) or TIMI < 3 flow in IRA after pPCI is a simple and best correlating with mortality definition of impaired tissue perfusion.
2. High on-treatment platelet reactivity in patients with short time interval from pain onset to revascularization predisposes to *"no-reflow"* phenomenon.
3. Time from pain onset to revascularization, anterior myocardial infarction, predilation, higher CK-MB activity on admission, lower left ventricle ejection fraction, higher fibrinogen concentration are independent risk factors of impaired tissue reperfusion after pPCI in patients with myocardial infarction.
4. GDF-15 concentration $\geq 1498,65$ pg/ml on admission predisposes to *"no-reflow"* phenomenon.
5. Older age, higher heart rate and high GDF-15 concentration $\geq 3428,09$ pg/ml are independent risk factors of 1-year mortality.