

Lidia Chmielewska-Michalak

**POLIMORFIZM WYBRANYCH GENÓW ORAZ ICH WPLYW
NA WYSTĘPOWANIE ZABURZEŃ RYTMU I ROKOWANIE
W PRZEWLEKŁEJ NIEWYDOLNOŚCI SERCA**

ROZPRAWA DOKTORSKA

Promotor: dr hab. n. med. Ewa Straburzyńska-Migaj

**I Klinika Kardiologii Katedry Kardiologii
Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu**

Poznań 2013

Moim Rodzicom

SPIS TREŚCI

Wykaz skrótów używanych w pracy.....	6
1. Wstęp.....	8
1.1 Epidemiologia i rokowanie w niewydolności serca.....	8
1.2 Nagły zgon sercowy u pacjentów z niewydolnością serca.....	9
1.3 Stratyfikacja ryzyka nagłego zgonu u pacjentów z niewydolnością serca.....	11
1.3.1. Szerokość zespołu QRS.....	11
1.3.2. Komorowe zaburzenia rytmu w badaniu EKG metodą Holtera.....	12
1.3.3. Odstęp QT i dyspersja QT.....	12
1.3.4. Mikrowoltowa naprzemienność załamka T.....	12
1.3.5. Turbulencja rytmu serca i testy wrażliwości baroreceptorów.....	13
1.3.6. Dynamika QT.....	13
1.3.7. Stopień zwłóknienia miokardium oceniany w badaniu MRI.....	13
1.3.8. Poziom peptydów macierzy zewnątrzkomórkowej, związanych z syntezą i rozkładem kolagenu typu 1.....	14
1.3.9. Stężenie BNP/ NT-pro BNP.....	14
1.4 Badania genetyczne i ich rola w stratyfikacji ryzyka nagłego zgonu w populacji pacjentów z niewydolnością serca.....	14
1.4.1. Polimorfizm wybranych genów kodujących białka układu RAA i ich wpływ na ryzyko nagłego zgonu u pacjentów z CHF.....	15
1.4.2. Polimorfizm genów kanałów jonowych i i ich wpływ na ryzyko nagłego zgonu u pacjentów z CHF.....	17
1.4.3. Polimorfizm genu kodującego sercowy receptor rianodynowy typu 2 i jego potencjalny wpływ na ryzyko nagłego zgonu w niewydolności serca.....	17
1.4.4. Polimorfizm genów koneksyny 43 i 45.....	18
1.4.5. Polimorfizm wybranych genów układu adrenergicznego i ich wpływ na ryzyko arytmii komorowej u pacjentów z CHF, ze szczególnym uwzględnieniem Gly 389Arg ADRB1 i C 825 T GNB3.....	18
2. Cel pracy.....	23
3. Materiał i metodyka.....	24
3.1 Materiał.....	24
3.2 Metodyka.....	25

3.2.1.	Badanie podmiotowe i przedmiotowe.....	25
3.2.2.	Badanie elektrokardiograficzne.....	25
3.2.3.	Badanie echokardiograficzne.....	26
3.2.4.	Badanie spiroergometryczne.....	26
3.2.5.	Badania laboratoryjne.....	27
3.2.6.	Badania genetyczne.....	27
3.2.7.	Obserwacja odległa.....	28
3.2.8.	Obliczenia statystyczne.....	29
4.	Wyniki.....	31
4.1	Analiza rozkładu genotypów oraz alleli ADRB1 i GNB3 w grupie badanej i kontrolnej.....	31
4.2	Porównanie rozkładu genotypów ADRB1 i GNB3 w grupie badanej i kontrolnej	33
4.3	Charakterystyka porównawcza grupy badanej i kontrolnej - dane demograficzne.....	36
4.4	Charakterystyka grupy badanej.....	36
4.4.1.	Dane demograficzne i kliniczne analizowanej grupy pacjentów.....	36
4.4.2.	Wybrane parametry laboratoryjne analizowanej grupy pacjentów.....	38
4.4.3.	Wybrane parametry badania spiroergometrycznego analizowanej grupy pacjentów.....	38
4.5	Charakterystyka badanej grupy badanej w zależności od genotypów ADRB1 i GNB3.....	39
4.5.1.	Dane demograficzne i kliniczne badanej grupy w zależności od genotypów ADRB1.....	39
4.5.2.	Wybrane parametry laboratoryjne w zależności od genotypów ADRB1.....	40
4.5.3.	Dane demograficzne i kliniczne badanej grupy w zależności od genotypów GNB3.....	40
4.5.4.	Wybrane parametry laboratoryjne w zależności od genotypów GNB 3.....	42
4.6	Charakterystyka badanej grupy w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji ICD.....	42
4.6.1.	Dane kliniczne i demograficzne analizowanej grupy w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji ICD.....	43
4.6.2.	Wybrane parametry laboratoryjne analizowanej grupy w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji ICD.....	45

4.6.3.	Wyniki analizy ROC (receiver operating characteristic curves).....	45
4.6.4.	Modele regresji Coxa.....	47
4.6.5.	Analiza czasu do pierwszego wyładowania przy pomocy krzywych Kaplana-Meiera dla BNP, cholesterolu całkowitego i LVEF.....	48
4.6.6.	Analiza korelacji.....	51
4.7	Charakterystyka genetyczna badanej grupy w zależności od wystąpienia pierwszorzędowego oraz złożonego punktu końcowego.....	52
4.8	Ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego w zależności od genotypów GNB3 i ADRB1.....	55
4.9	Analiza prawdopodobieństwa przeżycia bez adekwatnej interwencji oraz prawdopodobieństwa nie wystąpienia adekwatnej interwencji w zależności od badanych genotypów- krzywe Kaplana- Meiera.....	55
4.9.1.	Prawdopodobieństwo przeżycia bez adekwatnej interwencji oszacowane za pomocą krzywych Kaplana- Meiera w zależności od genotypów GNB3.....	56
4.9.2.	Analiza prawdopodobieństwa braku adekwatnej interwencji- krzywe Kaplana-Meiera dla genotypów ADRB1 i GNB3.....	56
5.	Dyskusja.....	61
6.	Wnioski.....	77
7.	Streszczenie.....	78
8.	Piśmiennictwo.....	84

WYKAZ SKRÓTÓW UŻYWANYCH W PRACY

ACEI	inhibitory konwertazy angiotensyny (ang. angiotensin- converting enzyme inhibitors)
ADRB1	receptor β 1-adrenergiczny (ang. adrenoceptor beta1)
AF	migotanie przedsionków (ang. atrial fibrillation)
ALT	aminotransferaza alaninowa
AST	aminotransferaza asparaginowa
ATP	stymulacja antytachyarytmiczna (ang. antitachycardia pacing)
ARB	blokery receptora angiotensyny II (ang. angiotensin II receptor blockers)
BMI	wskaźnik masy ciała (ang. body mass index)
BNP	peptyd natriuretyczny typu B (ang. B- type natriuretic peptide)
BRS	wrażliwość baroreceptorów (ang. baroreflex sesitivity)
CAD	choroba niedokrwienna serca (ang. coronary artery disease)
CHF	przewlekła niewydolność serca (ang. chronic heart failure)
CPET	test spiroergometryczny (ang. cardiopulmonary exercise test)
CRP	białko C- reaktywne (ang. C- reactive protein)
CRT-D	stymulator resynchronizujący z funkcją kardiowertera-defibrylatora (ang. cardiac resynchronization therapy defibrillator)
DCM	kardiomiopatia rozstrzeniowa (ang. dilated cardiomyopathy)
DNA	kwasy dezoksyrybonukleinowe (ang. deoxyribonucleic acid)
ESC	Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne (ang. European Society of Cardiology)
FEV1	natężona objętość wydechowa pierwszosekundowa (ang. forced expiratory volume in 1 second)
FEV%FVC	wskaźnik Tiffenau (ang. forced expiratory volume in one second % of forced vital capacity)
eGFR	szacowany współczynnik przesączania kłębuszkowego (ang. estimated glomerular filtration rate)
GNB3	podjednostka β 3 białka G (ang. guanine nucleotide binding protein [G protein], beta polypeptide 3)
HDL	cholesterol frakcji HDL (ang. high density lipoprotein)
HRT	turbulencja rytmu serca (ang. heart rate turbulence)

ICD	wszczepialny kardiowerter defibrylator (ang. implantable cardioverter-defibrillator)
LBBB	blok lewej odnogi pęczka Hisa (ang. left bundle branch block)
LDL	cholesterol frakcji LDL (ang. low density lipoprotein)
LVEF	frakcja wyrzutowa lewej komory (ang. left ventricular ejection fraction)
MRA	antagoniści receptora mineralokortykoidowego (ang. mineralocorticoid receptor antagonists)
MRI	rezonans magnetyczny (ang. magnetic resonance imaging)
NT-proBNP	N-końcowy propeptyd natriuretyczny typu B (ang. N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide)
NYHA	klasyfikacja niewydolności serca wg New York Heart Association
PCR	reakcja łańcuchowa polimerazy (ang. polymerase chain reaction)
peakVO ₂	szczytowe zużycie tlenu (ang. peak oxygen uptake)
POCHP	przewlekła obturacyjna choroba płuc
RAA	układ renina -angiotensyna -aldosteron
RER	współczynnik wymiany oddechowej (ang. respiratory exchange ratio)
RFLP	polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (ang. RFLP- restriction fragment length polymorphism)
SCD	nagły zgon sercowy (ang. sudden cardiac death)
VCO ₂	produkcja dwutlenku węgla (ang. carbon dioxide output)
VE	wentylacja minutowa (ang. minute ventilation)
VF	migotanie komór (ang. ventricular fibrillation)
VT	częstoskurcz komorowy (ang. ventricular tachycardia)

1. WSTĘP

1.1. Epidemiologia i rokowanie w niewydolności serca.

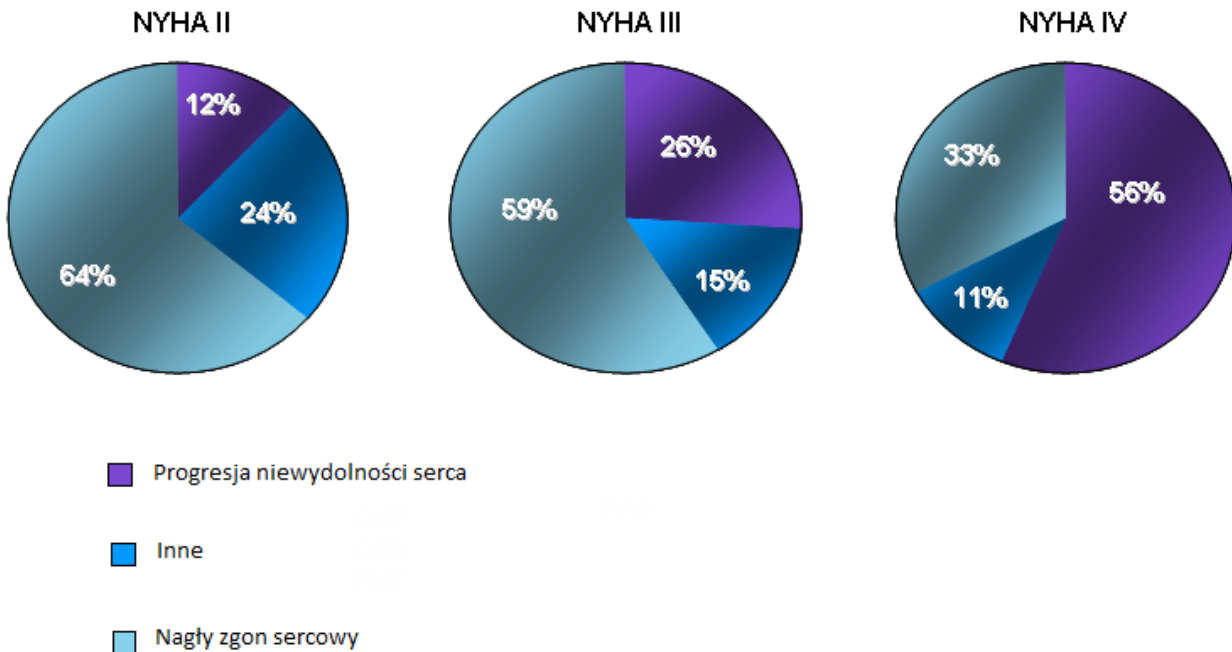
Przewlekła niewydolność serca (ang. chronic heart failure, CHF) stanowi coraz większy problem natury epidemiologicznej i społecznej w krajach rozwiniętych na całym świecie. Mimo coraz lepszego rozumienia mechanizmów patofizjologicznych leżących u jej podłoża, szeroko zakrojonej profilaktyki oraz istotnych postępów w leczeniu farmakologicznym i zabiegowym, wskaźniki zachorowalności na CHF nie zmieniają się w ostatnich kilkudziesięciu latach i choć zmniejsza się częstość zachorowań u pacjentów młodszych, to poprawa rokowania wśród tych z nadciśnieniem tętniczym i chorobą niedokrwienną powoduje, iż liczba chorych z niewydolnością serca rośnie wraz ze starzeniem się społeczeństwa. W ostatnich latach CHF stała się najczęstszą i najbardziej kosztowną przyczyną hospitalizacji pacjentów powyżej 65 roku życia.

Częstość występowania CHF ocenia się na 0,4 – 2 % populacji europejskiej, szacuje się iż w Polsce problem ten dotyczy około 0,8- 1 miliona chorych [1]. Na podstawie danych z badania Framingham, najczęstszą przyczyną CHF jest nadciśnienie tętnicze - 75% przypadków i choroba niedokrwienna serca - 50% przypadków. Te dwie jednostki chorobowe, występując łącznie lub samodzielnie, odpowiadały w tym badaniu za rozwój 90% przypadków CHF [2]. W Europie za najczęstszą przyczynę CHF u pacjentów poniżej 75 roku życia uważa się CAD-około 50% przypadków. W Polsce odsetek ten sięga 75% [3], a według Rywika i wsp, wśród pacjentów powyżej 65 roku życia, zgłaszających się do poradni, nawet do 87% [4]. Na drugim miejscu wymienia się nadciśnienie tętnicze, które jako samodzielna jednostka chorobowa lub w skojarzeniu z chorobą niedokrwienną jest przyczyną CHF w 60% przypadków [5]. Do innych chorób prowadzących do rozwoju niewydolności serca należą: kardiomiopatia rozstrzeniowa, zapalenie mięśnia sercowego, wady serca wrodzone i nabyte, kardiomiopatia przerostowa, choroby osierdzia, zaburzenia metaboliczne, czynniki toksyczne, rzadziej zaburzenia rytmu, choroby tarczycy, leki i inne.

Przewlekła niewydolność serca (CHF) jest chorobą o bardzo złym rokowaniu. Wskaźniki 5 letniego przeżycia są w jej przypadku gorsze niż u pacjentów z chorobą nowotworową (25% vs 50%) [6]. Wśród chorych z CHF i objawami w IV klasie NYHA śmiertelność roczna wynosi 50%, w pozostałych klasach NYHA odpowiednio 10% w klasie I, 10-20% w klasie drugiej, 20-40 % w klasie III [7]. Z badania Korewickiego i wsp. wynika, że rokowanie jest gorsze w przypadku LVEF<40%, etiologii niedokrwiennej i występowania objawów [8].

1.2. Nagły zgon sercowy u pacjentów z niewydolnością serca.

W populacji pacjentów z CHF mechanizm zgonu ma związek z zaawansowaniem choroby, określanym wg skali czynnościowej NYHA. W badaniu MERIT HF podkreślano, iż w klasie II i III najczęściej występują zgony nagłe (59- 64%), chorzy z zaawansowaną postacią CHF i objawami w klasie NYHA IV w 56% umierali z powodu progresji choroby [9].



Rycina 1. MERIT-HF Study Group. Effect of Metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL randomized intervention trial in congestive heart failure (MERIT-HF). Lancet 1999;353:2001-07.

Nagła śmierć sercowa (ang. sudden cardiac death, SCD) to naturalna, nieoczekiwana, poprzedzona utratą przytomności śmierć z powodów sercowych, która wystąpiła w ciągu godziny od początku objawów. Jest nią również niespodziewany, następujący bez świadka, często podczas snu, zgon osoby, która nie zgłaszała żadnych dolegliwości podczas ostatniej doby [10]. Według aktualnych danych najczęstszą przyczyną SCD w ogólnej populacji kardiologicznej jest migotanie komór i częstoskurcz komorowy (ang. ventricular fibrillation VF, ventricular tachykardia, VT). Dotyczą one 75%- 80% pacjentów. Za pozostałe przypadki odpowiadać może bradyarytmia [11]. Precyzyjne określenie pierwotnego mechanizmu zgonu bywa często bardzo trudne, jednak eksperci pozostają zgodni, iż w zdecydowanej większości przypadków u podłoża SCD leży złośliwa arytmia komorowa. Według Szczeklika trudno jest określić rzeczywistą częstość występowania SCD. Szacuje się, że w Europie i Stanach

Zjednoczonych co roku umiera w ten sposób 750-900 tys. osób [10]. Według Josephsona i wsp. SCD doświadcza na całym świecie ok. 3 milionów osób rocznie [12].

Zgodnie z aktualną wiedzą, obok optymalnej farmakoterapii, najlepszym sposobem zapobiegania SCD w populacji chorych z CHF jest implantacja kardiowertera- defibrylatora (ang. implantable cardioverter- defibrillator, ICD) [13,14,15,16]. Według obowiązujących zaleceń, wskazaniem do implantacji ICD w profilaktyce pierwotnej SCD jest istotna dysfunkcja skurczowa lewej komory, definiowana jako $LVEF \leq 35\%$. Wszczepienie urządzenia zaleca się u optymalnie leczonych pacjentów z objawami w klasie NYHA II i III, u których spodziewane przeżycie w dobrym stanie wynosi > 1 roku [17]. W związku z poszerzeniem wskazań do implantacji ICD, liczba chorych ze wszczepionym urządzeniem w ostatnich dziesięcioleciu istotnie wzrosła. Szacuje się, iż w 2009 roku wszczepiono w krajach europejskich aż 62000 ICD [18]. Wiadomo jednak, iż przynajmniej 50% spośród chorych ze wszczepionym ICD umiera z powodu progresji niewydolności serca, nie doświadczając złośliwej arytmii komorowej [12]. Według innych danych tylko 20-30% pacjentów z ICD implantowanym w prewencji pierwotnej doznaje adekwatnej interwencji w okresie 4- 5 lat po implantacji [15,16]. W ostatnim dziesięcioleciu liczba pacjentów z ICD, którzy wymagali jego wszczępienia by zapobiec 1 SCD wzrosła z 1 na 4 do 1 na 14 [19]. Godnym uwagi jest również fakt, iż prawie połowa chorych doświadczających nagłego zgonu ma prawidłową LVEF, a u 20% z nich występuje niewielka lub umiarkowana dysfunkcja lewej komory ($LVEF > 35\%$ i $< 50\%$) [20,21]. Z powyższych danych wynika, iż LVEF jest dalekim od doskonałości predyktorem nagłego zgonu, a co za tym idzie wciąż nie wystarczającym parametrem kwalifikującym do leczenia przez użyciu ICD. W świetle tak znamiennej liczby chorych, którzy wg aktualnych wytycznych kwalifikują się do implantacji urządzenia, nie bez znaczenia pozostaje koszt terapii oraz powikłania związane z leczeniem, w tym okołozabiegowe (krwawienie, odma opłucnowa, tamponada osierdzia), infekcyjne (zakażenie loży, odektrodowe infekcyjne zapalenie wsierdzia), potencjalna proarytmia czy nieadekwatne interwencje wysokoenergetyczne, będące efektem tachykardii zatokowej, szybkich rytmów nadkomorowych lub wynikające z nieprawidłowego zliczania załamek lub uszkodzenia elektrody. Epizody te pogarszają istotnie jakość życia pacjentów z ICD, nie pozostając bez wpływu na rokowanie. Poole i wsp, w opublikowanym w 2008 roku badaniu stanowiącym subanalizę badania SCD- HeFT wykazali, iż podczas średnio 45,5 miesięcznego okresu monitorowania, pacjenci którzy doświadczyli interwencji wysokoenergetycznej, zarówno adekwatnej jak i nieadekwatnej, umierali częściej w porównaniu z tymi, którzy nigdy mieli wyładowania [22]. Zjawisko to, w odniesieniu do interwencji nieadekwatnych, obserwowano również w populacji chorych włączonych do

badania MADIT II [23]. Ciekawe wydają się być wyniki badania ALTITUDE, które objęło ponad 7000 chorych. W badaniu tym nieadekwatne wyładowania spowodowane migotaniem przedsionków z szybką czynnością komór były związane z wyższą śmiertelnością, ale chorzy którzy doznali wyładowań z powodu tachykardii zatokowej lub artefaktów umierali z częstością porównywalną do tych, u których interwencji nie odnotowano. Może to sugerować, iż zwiększona śmiertelność niekoniecznie wiąże się z samym wyładowaniem, a wynika z postępu i/lub zaostrzenia choroby podstawowej, manifestującego się poprzez arytmie [24].

1.3. Stratyfikacja ryzyka nagłego zgonu u pacjentów z niewydolnością serca.

Powyższe przesłanki mobilizują do intensywnego poszukiwania nowych czynników ryzyka nagłego zgonu, które pozwoliłyby na wyodrębnienie z licznej populacji chorych z CHF tych, którzy odniosą szczególną korzyść ze wszczęcia ICD.

Wśród najlepiej poznanych czynników ryzyka nagłego zgonu w populacji pacjentów z CHF, oprócz LVEF wymienia się:

1.3.1. Szerokość zespołu QRS.

Parametr ten w prosty sposób odzwierciedla czas trwania pobudzenia komór, a jego wydłużenie >120 ms sugeruje obecność opóźnienia między i/lub śródkomorowego lub blok przewodzenia na poziomie komór i wiąże się z gorszym rokowaniem w populacji chorych z CHF. Takie nieprawidłowe przewodzenie impulsu, skutkując dyspersją repolaryzacji może być przyczyną arytmii komorowej. Wyniki badania MUSTT dowiodły, iż obecność bloku lewej odnogi pęczka Hisa (LBBB) lub zaburzeń przewodnictwa śródkomorowego w populacji pacjentów z dysfunkcją skurczową lewej komory wiąże się z 50% wzrostem ryzyka śmiertelności ogólnej i arytmicznej [14]. Wyniki badań nad przydatnością tego parametru wciąż pozostają niespójne. Według niektórych doniesień poszerzenie zespołu QRS nie zwiększa ryzyka istotnej arytmii komorowej i śmiertelności ogólnej [25] a w porównaniu z innymi parametrami, takimi jak LVEF czy MTWA, ma mniejszą wartość prognostyczną w stratyfikacji ryzyka SCD u chorych z CHF [26,27]. Wyniki badań nad znaczeniem rokowniczym szerokości QRS w CHF stanowiły przesłankę do wprowadzenia stymulacji resynchronizującej do terapii chorych z niewydolnością serca ze zmniejszoną frakcją wyrzutową lewej komory i poszerzonym zespołem QRS. Wszczepienie stymulatora resynchronizującego (CRT) u wybranych chorych z niewydolnością serca jest dziś standardem [17].

1.3.2. Komorowe zaburzenia rytmu w badaniu EKG metodą Holtera.

Obecność komorowych zaburzeń rytmu (utrwalonego częstoskurczu komorowego, epizodów nsVT oraz licznej ektopii komorowej) zwiększa ryzyko nagłego zgonu, co wynika z dostępnych doniesień. Zależność tę potwierdzono szczególnie w odniesieniu do pacjentów z chorobą niedokrwienną serca. W badaniu GISSI-2, spośród chorych włączonych do badania, ci, u których w 24 godzinnym badaniu EKG metodą Holtera obserwowano epizody nsVT oraz liczną ektopię komorową (definiowaną jako ≥ 10 przedwczesnych pobudzeń komorowych na godzinę), byli obarczeni większym ryzykiem nagłego zgonu [28]. Przydatność nsVT w stratyfikacji ryzyka SCD u chorych z dysfunkcją skurczową lewej komory potwierdzono w 3 dużych badaniach, w oparciu o które powstawały wskazania do implantacji ICD w pierwotnej prewencji nagłego zgonu (MUSTT, MADIT I, DEFINITE) [14,15,29]. W badaniu MUSTT i MADIT I nsVT, obniżona LVEF oraz VT indukowany w badaniu elektrofizjologicznym identyfikowały chorych odnoszących korzyść z implantacji kardiowertera- defibrylatora. Badanie DEFINITE [29] nie wykazało przydatności dodatniego wyniku EPS. Godnym uwagi pozostaje fakt, iż w niewydolności serca na tle nie-niedokrwiennym dowody na istnienie związku pomiędzy epizodami nsVT a ryzykiem nagłego zgonu są słabsze [30].

1.3.3. Odstęp QT i dyspersja QT.

Długość odstępu QT jest odzwierciedleniem czasu depolaryzacji i repolaryzacji w mięśniu komór, a jego dyspersja wynika z dyspersji repolaryzacji, która może predysponować do komorowych zaburzeń rytmu. Istnieją badania potwierdzające związek odstępu i dyspersji QT z ryzykiem zgonu w populacji chorych z CHF [31], jednak z uwagi na niską powtarzalność tych parametrów, ich przydatność w stratyfikacji tego ryzyka wciąż pozostaje wątpliwa.

1.3.4. Mikrowoltowa naprzemienność załamka T (ang. microvolt T wave alternans, MTWA).

Zjawisko to charakteryzuje się zmianą ukształtowania załamka T w co drugiej ewolucji serca. Jest ona odzwierciedleniem niestabilności elektrycznej miokardium i pojawia się wtedy, gdy częstość rytmu serca rośnie, powodując zaburzenia w wewnątrzkomórkowej homeostazie wapniowej kardiomiocytów [32]. Pomimo wstępnych entuzjastycznych opinii, duże badania przeprowadzone wśród pacjentów z niewydolnością serca o etiologii niedokrwienną i nie-niedokrwienną nie potwierdziły jednoznacznie przydatności tego parametru w stratyfikacji ryzyka SCD w tej grupie chorych [33,34]. Metaanaliza 19 prospektywnych badań nad TWA przeprowadzonych w latach 1990-2004, obejmująca ponad 2000 pacjentów z niewydolnością

serca o etiologii niedokrwiennej i nie-niedokrwiennej, ale również zdrowych ochotników, wykazała w odniesieniu do epizodów arytmicznych 19,3 % pozytywną wartość predykcyjną i 97,2 % negatywną wartość predykcyjną tego parametru [35]. Wynik ten sugeruje niewielkie ryzyko wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu u chorych z wynikiem negatywnym, ale nie potwierdza istotnej roli wyniku pozytywnego w stratyfikacji ryzyka SCD. Potwierdzono to w badaniu ALPHA w odniesieniu do pacjentów z CHF o etiologii nie-niedokrwiennej [36]. Aktualnie ocena MTWA może być dodatkowym użytecznym narzędziem w ocenie ryzyka nagłego zgonu w celu uściślenia wskazań do implantacji ICD w prewencji pierwotnej SCD.

1.3.5. Turbulencja rytmu serca (ang. heart rate turbulence, HRT) i testy wrażliwości baroreceptorów (ang. baroreflex sensitivity, BRS).

Parametry te oceniają równowagę pomiędzy układem współczulnym a przywspółczulnym. Chociaż niektóre z dotychczas przeprowadzonych badań potwierdziły ich użyteczność w stratyfikacji ryzyka nagłego zgonu [37], to jednak dostępne dane nie precyzują jasno tej zależności, a wartość HRT i BRS w przewidywaniu ryzyka nagłego zgonu i korzyści z implantacji ICD u chorych z niewydolnością serca wciąż pozostają wątpliwe [38,39].

1.3.6. Dynamika QT (ang. QT dynamicity).

Dynamika QT, definiowana jako stosunek odstępu QT/RR to parametr, którego przydatność w ocenie ryzyka nagłego zgonu w populacji chorych z CHF wykazano w kilku małych badaniach [40,41]. Jednak w dużym, prospektywnym badaniu obserwacyjnym nie potwierdzono tej zależności [42]. Zaobserwowano natomiast, iż parametr ten mierzony w ciągu dnia, skutecznie i niezależnie od wieku, klasy NYHA, LVEF i wywiadu choroby niedokrwiennej przewidywał śmiertelność całkowitą w populacji chorych z CHF.

1.3.7. Stopień zwłóknienia miokardium oceniany w badaniu rezonansu magnetycznego (ang. magnetic resonance imaging, MRI).

Zwłóknienie mięśnia lewej komory, obecne zarówno w chorobie niedokrwiennej jak i kardiomiopatiach o etiologii nie-niedokrwiennej, jest substratem predysponującym do wystąpienia arytmii komorowej. W ostatnich latach przeprowadzono wiele badań mających na celu ocenę zależności między stopniem zwłóknienia mięśnia sercowego a śmiertelnością, zwiększonym odsetkiem hospitalizacji z powodu zaostrzenia niewydolności serca oraz zwiększonym ryzykiem adekwatnych interwencji ICD. Wykazano, iż zwłóknienie miokardium u pacjentów z kardiomiopatią nie-niedokrwinną jest silniejszym od LVEF predyktorem

śmiertelności i hospitalizacji oraz koreluje ze zwiększonym ryzykiem nagłego zgonu i arytmii komorowej [43]. Zaobserwowano również związek pomiędzy stopniem zwłóknienia miokardium u pacjentów kwalifikowanych do implantacji ICD w prewencji pierwotnej a liczbą adekwatnych interwencji, zarówno w grupie pacjentów z chorobą niedokrwienną serca jak i kardiomiopatią o etiologii nie-niedokrwiennej [44,45].

1.3.8. Poziom peptydów macierzy zewnątrzkomórkowej, związanych z syntezą i rozkładem kolagenu typu 1.

Poziom peptydów macierzy zewnątrzkomórkowej, związanych z syntezą i rozkładem kolagenu typu 1, który jest głównym produktem fibroblastów macierzy w mięśniu sercowym, wzbudza zainteresowanie badaczy w ostatnim dziesięcioleciu. Potwierdzono, iż chorzy z kardiomiopatią rozstrzeniową, którym implantowano ICD w prewencji pierwotnej SCD i którzy doświadczyli adekwatnych interwencji urządzenia, mieli istotnie podwyższony poziom niektórych z tych peptydów [46]. Podobną zależność wykazano w odniesieniu do ryzyka wystąpienia częstoskurczu komorowego u pacjentów po zawale serca [47].

1.3.9. Stężenie BNP/ NT-pro BNP.

Podwyższone peptydów natriuretycznych typu B, nie tylko niezależnie od innych czynników przewiduje śmiertelność całkowitą w populacji pacjentów z CHF [48], ale jest również predyktorem nagłego zgonu w tej grupie chorych [49]. Zależność tę potwierdzono także w odniesieniu do pacjentów z implantowanym ICD [50].

1.4. Badania genetyczne i ich rola w stratyfikacji ryzyka nagłego zgonu w populacji pacjentów z CHF.

Od roku 1953, w którym to James Watson i Francis Crick zaproponowali cząsteczkowy model budowy DNA, wraz z rozwojem technik biologii molekularnej, toczyły się i wciąż toczą intensywne badania nad ludzkim genomem. W ciągu ostatnich 30 lat elementy genetyki nieodłącznie towarzyszą medycynie klinicznej.

Ludzki genom jądrowy składa się z 6 miliardów par nukleotydów, z których połowa pochodzi od matki a połowa od ojca. Tych 6 miliardów par nukleotydów tworzy 23 pary chromosomów. Jednostką czynnościową genomu jest gen, definiowany jako fragment sekwencji DNA zdolny do ekspresji cechy genetycznej. Człowiek ma około 32.000 genów. Termin mutacja (z łac. mutatio-zmiana) oznacza ilościową lub jakościową zmianę materiału genetycznego.

Mutacje duże dotyczą wielu nukleotydów i polegają na utracie (delecji), wstawieniu (insercji), powieleniu (duplikacji) lub przemieszczeniu (translokacji) fragmentu DNA. Obejmują one zwykle wiele genów i powodują zauważalne zmiany w cechach fenotypowych. W przeciwieństwie do nich mutacje submikroskopowe (które bada się przy użyciu technik biologii molekularnej) obejmują pojedyncze – do kilkuset tysięcy nukleotydów. Mutacje punktowe polegają na zmianie pojedynczego nukleotydu, który może ulec delecji, insercji, lub substytucji. Pacjent posiadający tylko jedną zmutowaną kopię genu jest heterozygotą, termin homozygota stosuje się do osoby, posiadającej 2 identyczne kopie genu, jeżeli obie są w ten sam sposób zmutowane- mówimy o homozygotie zmutowanej. Występujące w populacji różne warianty genu nazywa się allelami. Polimorfizm genetyczny oznacza występowanie w populacji 2 lub większej liczby alleli tego samego genu. O polimorfizmie mówi się wtedy, gdy najrzadszy wariant alleliczny w danym locus występuje w populacji z częstością $> 1\%$ [51].

Rozwój technik biologii molekularnej pozwolił na odkrycie wielu wariantów polimorficznych różnych genów, które mogą predysponować do występowania poszczególnych chorób, modulować ich przebieg oraz determinować odpowiedź na leczenie. Dotyczy to również przewlekłej niewydolności serca. Coraz lepiej poznane mechanizmy patofizjologiczne leżące u jej podłoża koncentrują uwagę badaczy na odmianach polimorficznych genów kodujących białka układu adrenergicznego, kanałów jonowych, układu RAA, białek odpowiedzialnych z homeostazę wapniową w mięśniu sercowym, w tym kanałów wapniowych typu L, receptora rianodynowego, fosfolambanu a także koneksyny 43, która jest głównym budulcem połączeń między kardiomiocytami.

1.4.1. Polimorfizm wybranych genów kodujących białka układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) i ich wpływ na ryzyko nagłego zgonu w populacji pacjentów z CHF.

Aktywacja układów RAA, zarówno osoczonego jak i tkankowych, to obok nadmiernej aktywacji układu współczulnego najważniejszy mechanizm patofizjologiczny leżący u podłoża większości niekorzystnych zmian zachodzących w przewlekłej niewydolności serca. Co więcej, wzmożona aktywność układu współczulnego, poprzez aktywację receptorów β_1 w aparacie przykłębuszkowym nerki pobudza wydzielanie reniny. Wydzielanie to zwiększa się również w wyniku aktywacji receptorów α w tętniczkach nerkowych, co obniża ciśnienie w tętniczkach doprowadzających. Angiotensyna I poprzez receptor AT1 aktywuje na kilku poziomach układ współczulny. Zarówno osoczoowa jak i tkankowa aktywność reninowa osocza koreluje ze stopniem zaawansowania niewydolności serca [52]. Wzmożona aktywność układu RAA,

skutkując podwyższonym poziomem angiotensyny II i aldosteronu, powszechnie znanych czynników predysponujących do włóknienia miokardium, zwiększa ryzyko arytmii i nagłego zgonu [10]. Potwierdzają to wyniki dużych badań klinicznych, które dowiodły iż blokowanie szlaków metabolicznych układu RAA za pomocą inhibitorów konwertazy angiotensyny, blokerów receptora angiotensyny oraz antagonistów receptora mineralokortykoidowego, istotnie zmniejsza ryzyko nagłego zgonu w populacji pacjentów z niewydolnością serca [53,54,55]. Powyższe przesłanki skłoniły wielu badaczy do poszukiwania zależności pomiędzy niektórymi z poznanych polimorfizmów genów kodujących białka układu RAA a ryzykiem arytmii komorowej i nagłego zgonu. Wśród najlepiej poznanych wariantów polimorficznych tego układu wymienić należy polimorfizm insercyjno/delecyjny enzymu konwertującego (ang. ACE D/I polymorphism). Bedi i wsp. w badaniu GRACE, do którego włączono 479 pacjentów z dysfunkcją skurczową lewej komory (LVEF <45%), w tym 82 chorych z implantowanym ICD, zaobserwowali istotnie lepszą przeżywalność w grupie chorych z genotypem ACE DI/II w porównaniu z tymi, u których występował wariant ACE DD. Co więcej, w grupie o gorszym rokowaniu implantacja ICD nie miała wpływu na jego poprawę, co sugeruje, iż nosiciele tego wariantu polimorficznego umierali częściej z powodu progresji niewydolności serca [56]. Istnieją również przesłanki naukowe wskazujące na to, iż wariant DD predysponuje do rozwoju niewydolności serca na podłożu kardiomiopatii rozstrzeniowej i niedokrwiennej i wiąże się z najwyższymi stężeniami angiotensyny II [57]. Anvari i wsp. badali związek pomiędzy wariantami polimorficznymi ACE D/I oraz polimorfizmem A/C receptora typu 1 dla angiotensyny II a ryzykiem wystąpienia złośliwej arytmii komorowej u pacjentów z chorobą niedokrwienią i upośledzoną kurczliwością lewej komory. Wykazali oni, iż nosicielstwo allelu D ACE oraz C AT1 zwiększało jej ryzyko [58]. Opisano również mniejszą częstość występowania wariantu ACE II w materiale sekcyjnym u pacjentów zmarłych w mechanizmie nagłego zgonu w porównaniu z populacją ogólną [59]. Wykazano związek pomiędzy wariantem DD i zwiększonym ryzykiem nagłego zgonu u chorych z kardiomiopatią przerostową [60]. Nie udowodniono natomiast zależności pomiędzy poszczególnymi wariantami polimorficznymi tego genu a zmiennością rytmu serca (HRV) w populacji chorych z niewydolnością serca [61]. Przypuszcza się, że niektóre warianty polimorficzne innych białek układu RAA (angiotensynogenu, receptora typu 1 dla angiotensyny II czy syntazy aldosteronu) mogą również predysponować do nagłego zgonu u chorych z niewydolnością serca. Nie zostało to jednak w pełni potwierdzone.

1.4.2. Polimorfizm genów kanałów jonowych i ich wpływ na ryzyko nagłego zgonu u pacjentów z CHF.

W ostatnich dziesięcioleciach zidentyfikowane zostały mutacje leżące u podłoża wielu wrodzonych zespołów związanych z występowaniem złośliwych arytmii komorowych u pacjentów ze strukturalnie zdrowym sercem (zespół Brugadów, zespół wydłużonego QT, zespół krótkiego QT, polimorficzny częstoskurcz komorowy zależny od katecholamin). Przyczyną większości z nich są mutacje w obrębie genów kodujących białka kanałów jonowych [62,63,64]. Opisano powszechnie występujące warianty polimorficzne genów kanałów jonowych. Jeżeli rzadko występujące mutacje mogą powodować nagły zgon u pacjentów z prawidłowym sercem, to założono, że niewielkie mutacje punktowe dotyczące genów kodujących białka tych kanałów z dużym prawdopodobieństwem wpływają na ryzyko nagłego zgonu u pacjentów ze strukturalną chorobą serca. Mogą one powodować między innymi nabyty zespół wydłużonego QT, będący efektem ubocznym działania niektórych leków. Na bazie tych przesłanek pojawiły się badania, których wyniki potwierdziły tę hipotezę. Jak wynika z jednego z nich, u 15 % pacjentów z nabytym zespołem wydłużonego QT identyfikuje się różne warianty genów kodujących kanały jonowe [65]. Splawski i wsp. opisali wariant polimorficzny Y1102 kanału sodowego SCN5A, występujący u prawie ponad 13% afroamerykanów, który predysponował do nagłego zgonu sercowego w tej populacji, postulując, iż może on być pomocny w identyfikacji pacjentów, mających podwyższone ryzyko SCD w kontekście przyjmowania amiodaronu [66]. Scharakteryzowano również warianty polimorficzne genów kanałów potasowych KCHNH2 związanych z LQTS2, które nieme klinicznie, mogą stać się potencjalnie złośliwe w określonych okolicznościach [67]. W ostatnich latach pojawiły się badania nad wpływem polimorfizmu genów kanałów jonowych na rokowanie w populacji chorych z niewydolnością serca. W jednym z nich Sun i wsp. weryfikowali związek pomiędzy polimorfizmem S1103Y SCN5A a występowaniem adekwatnych interwencji ICD w grupie afroamerykanów z niewydolnością serca, którym implantowano ICD w prewencji pierwotnej SCD. Obserwowali oni istotnie większą liczbę epizodów arytmii komorowej u pacjentów z wariantem Y1103 [68].

1.4.3. Polimorfizm genu kodującego sercowy receptor rianodynowy typu 2 (RyR2) i jego potencjalny wpływ na ryzyko nagłego zgonu w niewydolności serca.

Jony wapnia odgrywają istotną rolę w patofizjologii niewydolności serca. Nieprawidłowa gospodarka wapniowa na poziomie kardiomiocyta sprzyja progresji niewydolności serca i

inicjuje proces arytmogenezy. Nadmierna aktywacja układu współczulnego w niewydolności serca skutkuje pobudzeniem kanałów wapniowych typu L, co powoduje dokomórkowy napływ wapnia. Wzrost jego stężenia w cytoplazmie indukuje uwalnianie kolejnych jonów wapnia z siateczki sarkoplazmatycznej. W okresie rozkurczu aktywne pompy jonowe, w tym Ca^{2+} ATP-aza (SERCA), której działanie jest zależne od fosfolambanu, wypompowując jony wapnia z cytoplazmy, zmniejsza jego stężenie w tym przedziale komórkowym. Nieprawidłowa funkcja siateczki sarkoplazmatycznej w niewydolności serca polega na wycieku jonów wapnia przez receptor rianodynowy w okresie rozkurczu. Przeładowanie cytoplazmy wapniem skutkuje powstawaniem późnych potencjałów następczych leżących u podłoża komorowych zaburzeń rytmu [69]. Znajomość tych procesów pozwala przypuszczać, iż polimorfizm genów białek biorących udział w homeostazie wapniowej może mieć wpływ na ryzyko nagłego zgonu [70]. Niektóre z nich zostały już opisane i zdeponowane w banku SNP, ale badań klinicznych weryfikujących ich wpływ na ryzyko nagłego zgonu jest wciąż niewiele. Wykazano związek pomiędzy allelem A rs376687I receptora RyR 2 a ryzykiem wystąpienia arytmii komorowej u chorych z niewydolnością serca. Allel ten był niezależnym predyktorem nagłego zgonu [71].

1.4.4. Polimorfizm genów koneksyny 43 i 45.

Przedmiotem zainteresowań naukowych, jako potencjalnie predysponujące do arytmii, stały się również białka połączeń międzykomórkowych (ang. gap junctions). Warianty polimorficzne niektórych z nich, w tym koneksyny 43 i 45, mogą niekorzystnie wpływać na przekazywanie impulsu elektrycznego z komórki do komórki, predysponując do arytmii komorowej w mechanizmie re-entry [72]. Nie potwierdzono tego jeszcze w badaniach klinicznych u człowieka, ale istnieją doniesienia opisujące skłonność do komorowych zaburzeń rytmu w związku z nieprawidłową budową koneksyny 43 u myszy [73].

1.4.5. Polimorfizm wybranych genów układu adrenergicznego i ich wpływ na ryzyko arytmii komorowej u pacjentów z CHF (ze szczególnym uwzględnieniem Gly 389Arg ADRB1 i C 825 T GNB3).

Zwiększona aktywność układu współczulnego jest powszechnie znanym zjawiskiem towarzyszącym niewydolności serca. Aktywacja receptorów β_1 z jednej strony wywiera początkowo korzystny, kompensacyjny efekt poprzez działanie inotropowe, chronotropowe,

dromo i lusitropowe, jednak długotrwała i wzmożone ich ekspozycja na katecholaminy skutkuje szeregiem niekorzystnych zmian, w tym apoptozą, przerostem kardiomiocytów, hyperpazją fibroblastów, nieprawidłową gospodarką jonami wapnia w kardiomiocytach, a co za tym idzie upośledzeniem ich funkcji skurczowej i zwiększoną skłonnością do arytmii [10]. Dowodem na istotną rolę układu współczulnego w patofizjologii CHF jest potwierdzony w dużych badaniach klinicznych, wyjątkowo korzystny wpływ beta-adrenolityków na przeżywalność i zmniejszenie ryzyka nagłego zgonu u chorych z niewydolnością serca [9,74]. Powyższe przesłanki pozwoliły na wysunięcie przypuszczenia, że niektóre warianty polimorficzne receptorów β mogą predysponować do wystąpienia niewydolności serca, modulować jej przebieg i odpowiedź na leczenie. W związku z wciąż niedoskonałym modelem stratyfikacji ryzyka SCD, intensywnie poszukuje się nowych, w tym również genetycznych markerów, które pozwoliłyby na wyodrębnienie chorych szczególnie narażonych na nagły zgon. Wśród nich na uwagę zasługują: polimorfizm Arg389Gly ADRB1 oraz C825 T GNB3.

Gen receptora ADRB1 zlokalizowany jest na ramieniu q chromosomu 10. Mutacja punktowa polegająca na wymianie cytozyny na guaninę w 1165 nukleotydzie skutkuje zamianą argininy na glicynę w pozycji 389 łańcucha białkowego receptora β 1. Mutacja ta występuje w populacji z częstością 30% [75]. Jak wykazano w badaniach *in vitro*, wariant Arg389 charakteryzuje się większą aktywnością cyklazy adenylowej [76]. Wariant ten predysponował do wyższych wartości ciśnienia rozkurczowego oraz szybszej czynności serca w spoczynku [77,111] i wiązał się z lepszą odpowiedzią na stymulację receptora β 1 przez jego agonistę w porównaniu z wariantem Gly389 [78]. Wyniki badań nad wpływem tego polimorfizmu na predyspozycję do rozwoju niewydolności serca wciąż pozostają niejednoznaczne [79,80]. Opierając się na wynikach wyżej cytowanych badań, które wykazały mniejszą aktywność cyklazy adenylowej w przypadku wariantu Gly389, White i wsp. w badaniu stanowiącym subanalizę badania MERIT -HF, po identyfikacji u 600 chorych tego właśnie wariantu, badali jego wpływ na chorobowość i śmiertelność, nie potwierdzając korzystnego wpływu tego wariantu na występowanie złożonego punktu końcowego [81]. Podobny wynik uzyskali De Grote i wsp. w prospektywnej analizie do której włączono 444 chorych z CHF i skurczową dysfunkcją LK. Badając wpływ 2 polimorfizmów receptora β 1 (Gly 389Arg, Ser49Gly) i 3 wariantów polimorficznych receptora β 2 (Gln27Glu, Arg16Gly, Thr164Ile) na przeżywalność, autorzy nie zaobserwowali istotnego wpływu żadnego z nich na rokowanie w badanej grupie [82]. Ciekawym wydaje się być fakt, iż nosiciele wariantu Arg389 lepiej odpowiadali na leczenie beta-adrenolitykiem[81]. Zjawisko to zostało też potwierdzone w innych badaniach. W jednym z nich u 224 chorych z CHF, leczonych karwedilem, Perez i wsp zaobserwowali, iż nosiciele

wariantu Arg389 mieli istotnie większy wzrost LVEF w odpowiedzi na leczenie tym lekiem, w porównaniu z nosicielami wariantu Gly389 [83]. Podobny efekt leczenia metoprololem, w postaci istotnej poprawy LVEF u chorych z wariantem Arg389 obserwowano w innych badaniach [84,85]. Wykazano zależność pomiędzy niektórymi z wariantów ADRB1 a ryzykiem wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu u pacjentów z niewydolnością serca [96,97,100].

Białka G to grupa białek o właściwościach GTP-azy. Występują one w wielu komórkach organizmu i związane z receptorami, pośredniczą w przekazywaniu sygnału do komórki. Receptor $\beta 1$ jest jednym z wielu receptorów zależnych od białka G. Białko G składa się z 3 podjednostek: α , β i γ . Jest ono związane z wewnętrzną powierzchnią błony komórkowej. Połączenia liganda z receptorem skutkuje zmianą jego przestrzennej konfiguracji, co stwarza możliwość połączenia z podjednostką α białka G i zapoczątkowuje całą kaskadę przemian mających na celu dalsze przekazanie sygnału. Powszechność występowania tego białka i jego powiązanie z licznymi receptorami pozwala sądzić, iż wszelkie zmiany w sekwencji aminokwasów w obrębie jego podjednostek mogą skutkować wieloma różnymi efektami biologicznymi, a jego powiązanie z receptorem $\beta 1$ stwarza również możliwość wpływu tej zmienności na występowanie komorowych zaburzeń rytmu.

Składający się z 11 egzonów gen GNB3 zlokalizowany jest w obrębie chromosomu 12p13. Polimorfizm C825 T GNB3 charakteryzuje się zamianą cytozyny na tyminę w pozycji 825 w egzonie 10. Mutacja ta nie skutkuje zamianą aminokwasów w łańcuch białkowym a wiąże się z z odmiennym składaniem RNA, polegającym na wypadnięciu nukleotydów w pozycji 498- 620 w egzonie 9. Efektem translacji skróconego łańcucha nukleotydów jest powstanie krótszego, zmodyfikowanego łańcucha białkowego podjednostki β , zwanego G β 3s [86]. W populacji ludzkiej wykazano istnienie 3 różnych alleli tego genu w postaci homozygot CC, TT oraz heterozygoty CT. Zaobserwowano, iż allel T wiąże się z większą aktywnością białka G [87]. Można zatem przypuszczać, że u nosicieli allelu T, szczególnie u homozygot, katecholaminy, jako agoniści receptora $\beta 1$ wywierają silniejszy efekt biologiczny. Znalazło to odzwierciedlenie w niektórych badaniach nad wpływem tego polimorfizmu na ryzyko wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu i nagłego zgonu w populacji chorych z niewydolnością serca [100].

Potwierdzono udział białka G w licznych mechanizmach patogenetycznych leżących u podłoża choroby niedokrwiennej serca. Do najistotniejszych należą procesy związane z aktywacją płytek krwi podczas tworzenia się skrzepliny przyściennej w ostrym zespole wieńcowym, procesy atherogenezy, w tym migracja komórek mięśni gładkich oraz proces zapalny, mające niewątpliwie istotny wpływ na powstawanie blaszki miażdżycowej i jej

stabilność [88]. W kolejnych badaniach wykazano związek tego polimorfizmu ze skłonnością do rozwoju choroby niedokrwiennej oraz stopniem jej zaawansowania. Zaobserwowano, iż nosiciele allelu T częściej chorowali na chorobę niedokrwinną serca i mieli bardziej zaawansowany proces miażdżycowy w tętnicach wieńcowych. Potwierdzono też związek tego allelu z częstszym występowaniem zawału serca [89] oraz z większą skłonnością do skurczu tętnic wieńcowych w odpowiedzi na stymulację farmakologiczną [90].

Polimorfizm ten nie pozostaje bez wpływu na czynniki ryzyka choroby niedokrwiennej, w tym nadciśnienie tętnicze, cukrzycę i nadwagę. Wykazano związek allelu T z częstszym występowaniem nadciśnienia tętniczego, szczególnie w połączeniu z allelem D polimorfizmu I/D ACE [91]. Nosicielstwo allelu T wiązało się z lepszą odpowiedzią na leczenie hydrochlorotiazydem u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [92]. Obserwowano istotnie częstsze występowanie nadwagi i otyłości wśród nosicieli allelu T [93] oraz jego związek z występowaniem insulinooporności w populacji pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, co wydawało się być niezależnym od BMI [94]. W dotychczas przeprowadzonych badaniach wskazano też na związek tego polimorfizmu z ryzykiem udaru mózgu, potwierdzając, iż wariant T predysponował do wystąpienia udaru, niezależnie od innych czynników ryzyka, ale tylko u chorych rasy białej, zależności tej nie wykazano w odniesieniu do afroamerykanów [95].

Dotychczasowe badania, w których próbowano ocenić wpływ czynników genetycznych na rokowanie w niewydolności serca dotyczą głównie zależności pomiędzy poszczególnymi polimorfizmami genów kodujących receptory adrenergiczne a ryzykiem zgonu oraz wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu w tej populacji chorych [96,97,98,99]. Oceniano również ich wpływ na predyspozycję do rozwoju niewydolności serca [79,80,96].

Nieliczne z przeprowadzonych badań analizowały wpływ poznanych odmian polimorficznych genów kodujących białka tych receptorów na ryzyko wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu u chorych z niewydolnością serca i implantowanym ICD. Pojedyncze prace wskazują na możliwy wpływ polimorfizmów Arg398Gly ADRB1 oraz C825T GNB3 na ryzyko wystąpienia adekwatnej interwencji ICD u pacjentów z niewydolnością serca. Wśród tych dotychczas opublikowanych na uwagę zasługuje badanie Chemello i wsp [100]. Cytowani autorzy, identyfikując w badanej grupie chorych obydwa polimorfizmy, wykazali szczególnie wysokie ryzyko wystąpienia adekwatnej interwencji u nosicieli 2 alleli ryzyka, do których zaliczyli allel C ADRB1 oraz allel T GNB3. Nosiciele obu tych alleli mieli znamienne krótszy czas przeżycia wolny od wyładowania w porównaniu z resztą chorych. Odmienne wyniki otrzymali Wieneke i wsp. Badacze wskazali na genotyp CC GNB3 jako ten predysponujący do

adekwatnych interwencji ICD [101]. Toczy się obecnie duże, prospektywne, wielośrodkowe badanie, które ma objąć grupę ponad 1000 pacjentów z implantowanym ICD i uściślić zależność pomiędzy niektórymi wariantami polimorficznymi podjednostek α i β białka G, w tym również GNB3 a ryzykiem komorowych zaburzeń rytmu i nagłego zgonu w populacji chorych z CHF [102].

Dostępne dane, wskazując na możliwy związek polimorfizmów Gly389Arg ADRB1 oraz C825T GNB3 z występowaniem arytmii komorowej u pacjentów z niewydolnością serca, nie sprecyzowały jednoznacznie, który z ich wariantów wiąże się z ryzykiem nagłego zgonu. W związku z tym oraz ze stosunkowo niewielką liczbą doniesień na ten temat, wymienione polimorfizmy stały się przedmiotem moich zainteresowań.

2. CEL PRACY

W pracy przyjęto następujące cele badawcze:

1. Ocena związku polimorfizmów Gly389Arg genu ADRB1 oraz C825T genu GNB3 z predyspozycją do wystąpienia niewydolności serca.
2. Ocena wpływu badanych polimorfizmów na występowanie adekwatnych interwencji ICD w badanej grupie chorych.
3. Określenie przydatności analizowanych polimorfizmów genów ADRB1 i GNB3 w ocenie rokowania w badanej grupie chorych z przewlekłą niewydolnością serca.
4. Dodatkowym celem było zbadanie zależności pomiędzy niektórymi z parametrów klinicznych i laboratoryjnych a ryzykiem wystąpienia adekwatnej interwencji ICD.

3. MATERIAŁ I METODYKA.

3.1. Materiał.

Grupę badaną stanowiło 115 pacjentów, w tym 95 mężczyzn i 20 kobiet, w wieku od 26 do 83 lat (średnio 57 ± 11) z rozpoznaną przewlekłą niewydolnością serca w przebiegu dysfunkcji skurczowej lewej komory ($LVEF \leq 45\%$, $NYHA \geq II$), hospitalizowanych w I Klinice Kardiologii Katedry Kardiologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, w celu wszczęcia kardiowertera- defibrylatora (ICD) (84 pacjentów- 73%) lub stymulatora resynchronizującego z funkcją defibrylacji (CRT-D) (31 pacjentów- 27%). 96 chorym (83,5%) urządzenie wszczepiono w prewencji pierwotnej nagłego zgonu, 19 chorych (16,5%) miało w wywiadzie migotanie komór lub niestabilny hemodynamicznie częstoskurcz komorowy. Do badania włączono chorych z niewydolnością serca na podłożu choroby niedokrwiennej (77 pacjentów- 67%) lub kardiomiopatii rozstrzeniowej / pozapalnej (38 pacjentów - 33%). W chwili włączenia do badania wszyscy chorzy byli stabilni klinicznie i otrzymywali optymalne leczenie farmakologiczne.

W pracy przyjęto następujące kryteria wykluczenia:

- niewydolność serca o etiologii innej niż choroba niedokrwienne i kardiomiopatia rozstrzeniowa/pozapalna,
- aktywny proces zapalny/aktywna infekcja,
- stany związane ze złym rokowaniem (choroba nowotworowa),
- niewydolność serca trwająca krócej niż 3 miesiące (w przypadku prewencji pierwotnej),
- schyłkowa niewydolność nerek wymagająca dializoterapii,
- wiek < 18 roku życia i > 85 roku życia,
- upośledzenie intelektualne uniemożliwiające współpracę,
- brak zgody pacjenta na udział w badaniu.

Wszystkie osoby wyraziły świadomą pisemną zgodę na udział w badaniu. Protokół badawczy został zatwierdzony przez Komisją Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Uchwała nr 337/10).

Grupę kontrolną stanowiło 96 zdrowych ochotników, honorowych dawców krwi z Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Poznaniu przy ul. Marceińskiej 44.

3.2. Metodyka.

U pacjentów wykonano:

- badanie podmiotowe i przedmiotowe,
- badanie elektrokardiograficzne,
- badanie echokardiograficzne,
- badanie spiroergometryczne,
- badania laboratoryjne,
- badania genetyczne.

3.2.1 Badanie podmiotowe i przedmiotowe.

U wszystkich chorych przeprowadzono typowe badanie podmiotowe, zwracając uwagę na wywiad chorobowy dotyczący etiologii niewydolności serca, występowania w przeszłości zaburzeń rytmu, w tym migotania przedsionków, komorowych zaburzeń rytmu, ze szczególnym uwzględnieniem częstoskurczu komorowego i migotania komór oraz chorób współistniejących i ich leczenia. Określano stopień nasilenia objawów wg skali NYHA, zwracano również uwagę na rodzaj i dawki stosowanych leków. W trakcie badania przedmiotowego oceniano zjawiska akustyczne występujące nad serce i polami płucnymi, koncentrując się na częstości i miarowości pracy serca, obecności wykładników dekompensacji układu krążenia takich jak: trzeszczenia nad polami płucnymi, powiększenie wątroby i /lub cechy wodobrzusza w badaniu palpacyjnym jamy brzusznej, obrzęki kończyn dolnych.

3.2.2. Badanie elektrokardiograficzne.

U wszystkich pacjentów wykonano w pozycji leżącej 12-odprowadzeniowe badanie elektrokardiograficzne z prędkością przesuwu papieru 25mm/s, w którym oceniano rytm wiodący, zwracając uwagę na obecność migotania przedsionków oraz komorowych zaburzeń rytmu, a także na obecność stymulacji i zaburzeń przewodnictwa śródkomorowego (w szczególności bloku lewej odnogi pęczka Hisa). Metodą manualną określano w milisekundach czas trwania zespołu QRS, przyjmując ostatecznie najdłuższą z wartości na podstawie analizy wszystkich z 12 odprowadzeń.

3.2.3. Badanie echokardiograficzne.

Przezskłatkowe badanie echokardiograficzne wykonano w Pracowni Echokardiografii I Kliniki Kardiologii Katedry Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, aparatem VIVID 6 firmy GE Medical System, używając elektronicznej głowicy sektorowej o zmiennej częstotliwości 1,5- 2,5 MHz. Badanie przeprowadzono u pacjentów w ułożeniu lewobocznym w prezentacji M- mode i dwuwymiarowej 2D z zastosowaniem doplera ciągłego i spektralnego. LVEF oceniana była, zgodnie z aktualnie obowiązującymi wytycznymi [17] przy zastosowaniu zmodyfikowanej metody Simpsona, za pomocą programu obliczeniowego echokardiografu.

3.2.4. Badanie spiroergometryczne.

U 84 pacjentów przeprowadzono badanie spiroergometryczne. Wykonali oni maksymalny, ograniczony objawami test wysiłkowy na bieżni ruchomej wg zmodyfikowanego protokołu Bruce'a (dodając do standardowego protokołu Bruce'a etap wstępny trwający 3 minuty, z przesuwem bieżni wynoszącym 1,7 km/godz. i 5% nachyleniem) lub protokołu typu RAMP, w którym przesuw bieżni i nachylenie zmieniają się tak, by przyrost obciążenia wynosił 0,5 MET/min. Test był limitowany wystąpieniem objawów zmęczenia, duszności, bólu dławicowego. Wszyscy chorzy byli mobilizowani do kontynuowania wysiłku do momentu uzyskania wartości współczynnika wymiany oddechowej (ang. respiratory exchange ratio, RER) >1,0, najlepiej co najmniej 1,1-1,15, co jest warunkiem do uznania wykonania przez badanego intensywnego wysiłku [103]. Rejestrowano w sposób ciągły zapis elektrokardiograficzny i w odstępach co 2 minuty dokonywano pomiaru ciśnienia tętniczego za pomocą sfigmomanometru. Podczas badania, za pomocą przystawki metaboliczno- spirometrycznej Vmax29 Sensor Medics, mierzono w sposób ciągły pochłanianie tlenu (VO_2), wytwarzanie dwutlenku węgla (VCO_2) oraz wentylację minutową (VE). Określano szczytowe zużycie tlenu (ang. peak oxygen uptake), peak VO_2 , obliczając jego wartość jako średnią z ostatnich 20 sekund wysiłku, podając ją w ml/kg/min, oraz jako odsetek należny dla wieku, płci, masy ciała i wzrostu [104].

Przed badaniem na bieżni u każdego chorego wykonywano badanie spirometryczne, oceniając natężoną pojemność życiową płuc (FVC), natężoną objętość wydechową pierwszosekundową (FEV_1) oraz wskaźnik Tiffenau, czyli $FEV_1\%FVC$ (z ang. forced expiratory volume in one second % of forced vital capacity). Wszystkie parametry odnoszono do wartości należnych dla wieku i płci.

Z uwagi na niemożność wykonania wysiłku spowodowaną ograniczeniem ruchowym, zakrzepicą żył głębokich kończyn dolnych, tachykardią, występowaniem złożonych komorowych zaburzeń rytmu i brakiem zgody pacjenta na badanie, testu spioergometrycznego nie wykonano u 31 pacjentów.

3.2.5. Badania laboratoryjne.

Próbki krwi żyłnej do badań laboratoryjnych zostały pobrane po 30 min odpoczynku w pozycji leżącej, przed wykonaniem procedur diagnostycznych i leczniczych.

U wszystkich pacjentów wykonano podstawowe badania laboratoryjne.

Morfologię krwi wykonano przy użyciu aparatu ABX Pentra DF 120 firmy Horiba.

Stężenie BNP oznaczano w analizatorze AxSYM firmy Abbott Laboratories.

Stężenie CRP badano metodą immunoenzymatyczną korzystając z aparatu Dimension RxL firmy Siemens.

Podstawowe badania biochemiczne (kreatynina, glukoza, cholesterol całkowity, LDL, HDL, trójglicerydy, bilirubina, aktywność AST, ALAT) wykonano przy użyciu aparatu do analiz biochemicznych Dimension Pxl firmy Siemens.

Badania zostały wykonane w laboratoriach Szpitala Klinicznego im. Przemienienia Pańskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu przy ul. Długiej 1 / 2 oraz Łąkowej 1 / 2.

3.2.6. Badania genetyczne.

W celu wykonania badań genetycznych, od każdego chorego pobierano 10 ml krwi obwodowej na EDTA. Genomowy DNA izolowano z leukocytów krwi obwodowej metodą wysalania. Warianty polimorficzne Gly389Arg genu ADRB1 oraz C825T genu GNB3 oznaczano przy użyciu polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP- -restriction fragment length polymorphism). Wybrane fragmenty wymienionych genów amplifikowano metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR- polymerase chain reaction), przy użyciu par starterów:

1. Dla genu ADRB1: F: 5' CCAACGGGCGTGCGGGTAAG 3'

R: 5' GGTCTCCGTGGGTCGCGTG 3'

2. Dla genu GNB3: F: 5' ACCCGTGCCCTCAGTTCTTC 3'

R: 5' TACCCACACGCTCAGACTTCA 3'.

Produkt amplifikacji fragmentu genu ADRB1 o długości 319 par nukleotydów poddano trawieniu endonukleazą BsaJI (5'C/CNNGG3') New England BioLabs (Ipswich, USA). Produkty trawienia o długości 258, 51 oraz 10 par zasad wskazywały na obecność allelu G, podczas gdy produkty o długości 309 i 10 par zasad świadczyły o obecności allelu C. Produkt amplifikacji genu GNB3 o długości 234 par zasad trawiono endonukleazą BsaJI (5'C/CNNGG3') New England BioLabs (Ipswich, USA). W przypadku allelu C otrzymywano fragmenty od długości 139 i 95 par zasad, natomiast allel T nie ulegał trawieniu. Otrzymane fragmenty DNA rozdzielono elektroforetycznie na 3% żelu agarozowym zawierającym bromek etydyny.

Badania wykonano w Katedrze i Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego Poznaniu (kierownik: prof. dr hab. Paweł Jagodziński).

3.2.7. Obserwacja odległa.

W okresie monitorowania, którego mediana wyniosła 364 dni (zakres od 9 do 671 dni), pacjenci odbywali regularne (co 6 miesięcy) wizyty w Poradni Kontroli Urządzeń Wszczepialnych/ Poradni Niewydolności Serca przy I Klinice Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Urządzenia kontrolowano również po każdym wyładowaniu. W trakcie wizyt analizowano uzyskane z pamięci urządzenia zapisy elektrokardiogramów wewnątrzsercowych i odnotowywano epizody arytmii oraz związane z nimi interwencje, takie jak: stymulacja antytachyarytmiczna (ATP- antytachycardia pacing) oraz interwencje wysokoenergetyczne. 9 chorych monitorowano za pomocą telemonitoringu (Medtronic CareLink).

Urządzenia wszczepialne zaprogramowano według indywidualnych potrzeb pacjenta, nie przyjęto jednolitego protokołu na potrzeby badania. U zdecydowanej większości chorych programowano 2 strefy detekcji arytmii :

1. Strefę częstoskurczu komorowego (VT), w której programowano kilka sekwencji stymulacji ATP oraz terapię wysokoenergetyczną.
2. Strefę migotania komór (VF), w której podstawowym rodzajem terapii była terapia wysokoenergetyczna, u większości chorych włączono również opcję stymulacji ATP w trakcie ładowania kondensatorów (z ang. ATP during charging).

Najczęściej strefę VT programowano dla arytmii o częstości >176/min, a strefę VF dla arytmii o częstości >200/min.

Terapię wysokoenergetyczną lub stymulację ATP dostarczane przez urządzenie w odpowiedzi na tachyarytmię komorową definiowano jako interwencję adekwatną. Terapie dostarczane w efekcie arytmii innej niż komorowa (np. migotanie przedsionków, tachykardia zatokowa) lub w związku z nieprawidłowym zliczaniem załamków (np. oversensing załamka T) uznano za nieadekwatne.

Analizowano wystąpienie pierwszorzędowego punktu końcowego jakim była adekwatna interwencja ICD oraz złożonego punktu końcowego (zgon z przyczyn sercowo- naczyniowych oraz adekwatna interwencja ICD).

3.2.8. Obliczenia statystyczne.

Analiza statystyczna otrzymanych wyników została wykonana za pomocą programu STATISTICA 6.0 PL (StatSoft, USA) oraz programu Analyze-it (UK).

Pierwszym krokiem w analizie było sprawdzenie normalności rozkładów danych w skali interwałowej, którą wykonano za pomocą testu Shapiro-Wilka. Zmienne interwałowe o rozkładzie parametrycznym przedstawiono jako średnie arytmetyczne z odchyleniem standardowym ($\langle X \rangle \pm SD$), natomiast zmienne nieparametryczne przedstawiono jako mediany z zakresem. Do porównania zmiennych parametrycznych wykorzystano test t- Studenta oraz analizę wariancji (ANOVA). Do porównania danych nieparametrycznych wykorzystano test Manna-Whitneya oraz test Kruskala-Wallisa. Do analizy zmiennych nominalnych wykorzystano test χ^2 lub dokładny test Fishera.

Zmienne, które w trakcie wstępnej analizy uzyskały istotność statystyczną włączano do jedno- i wielowymiarowego modelu proporcjonalnego hazardu Coxa. Związek między zmiennymi dychotomicznymi a interwałowymi analizowano przy użyciu modelu regresji logistycznej. Za pomocą powyższych metod obliczono ilorazy szans oraz 95% przedziały ufności dla wybranych zmiennych (czynników), które miały wpływ na wystąpienie pierwszorzędowego punktu końcowego (adekwatnych interwencji ICD) oraz złożonego punktu końcowego (adekwatnych interwencji lub zgonu).

Analizę czasu do wystąpienia adekwatnej interwencji lub adekwatnej interwencji i zgonu w badanych grupach przeprowadzono za pomocą testu log-rank, wyznaczono również krzywe Kaplana-Meiera.

Do obliczenia punktów odcięcia oraz wartości diagnostycznej badanych parametrów wykorzystano analizę krzywych ROC (receiver operating characteristic curves).

Do oceny związku między parami parametrów obliczono współczynniki korelacji Spearmana.

Wszystkie testy były wykonane przy poziomie istotności $\alpha=0,05$.

4. Wyniki.

4.1. Analiza statystyczna rozkładu genotypów oraz alleli ADRB1 i GNB3 w grupie badanej i kontrolnej.

Po przeprowadzeniu analizy rozkładów genotypów oraz alleli genu ADRB1 oraz GNB3 w badanej grupie chorych z niewydolnością serca stwierdzono, iż otrzymane układy pozostają w stanie równowagi zgodnie z prawem Hardy- Weinberga (tabele 1 - 4).

Tabela 1. Rozkład genotypów genu ADRB1 w grupie badanej .

Genotyp	CC	GC	GG
*Rozkład przewidywany	59,6%	35,2%	5,2%
Rozkład obserwowany	59,6%	34,2%	6,2%

*Rozkład przewidywany na podstawie równania Hardy- Weinberga.

Tabela 2. Rozkład alleli genu ADRB1 w grupie badanej.

Allel	C	G
*Rozkład przewidywany	0,77	0,23
Rozkład obserwowany	0,76	0,24

*Rozkład przewidywany na podstawie równania Hardy- Weinberga.

Tabela 3. Rozkład genotypów genu GNB3 w grupie badanej.

Genotyp	CC	CT	TT
*Rozkład przewidywany	35,6%	48,2%	16,2%
Rozkład obserwowany	35,6%	51,4%	13,0%

*Rozkład przewidywany na podstawie równania Hardy- Weinberga.

Tabela 4. Rozkład alleli genu GNB3 w grupie badanej.

Allel	C	T
*Rozkład przewidywany	0,60	0,40
Rozkład obserwowany	0,62	0,38

*Rozkład przewidywany na podstawie równania Hardy- Weinberga.

Po przeprowadzeniu analizy rozkładu genotypów oraz częstości alleli genu ADRB1 oraz GNB3 w grupie kontrolnej stwierdzono, iż otrzymane układy pozostają w stanie równowagi zgodnie z prawem Hardy –Weinberga (tabele 5 – 8).

Tabela 5. Rozkład genotypów genu ADRB1 w grupie kontrolnej.

Genotyp	CC	GC	GG
*Rozkład przewidywany	44,7%	44,4%	10,9%
Rozkład obserwowany	44,7%	46,8%	8,3%

*Rozkład przewidywany na podstawie równania Hardy- Weinberga.

Tabela 6. Rozkład alleli genu ADRB1 w grupie kontrolnej.

Allel	C	G
*Rozkład przewidywany	0,67	0,33
Rozkład obserwowany	0,68	0,32

*Rozkład przewidywany na podstawie równania Hardy- Weinberga.

Tabela 7. Rozkład genotypów genu GNB3 w grupie kontrolnej.

Genotyp	CC	CT	TT
*Rozkład przewidywany	45,5%	43,7%	10,5%
Rozkład obserwowany	45,5%	41,8%	12,7%

*Rozkład przewidywany na podstawie równania Hardy- Weinberga.

Tabela 8. Rozkład alleli genu GNB3 w grupie kontrolnej.

Allel	C	T
*Rozkład przewidywany	0,68	0,32
Rozkład obserwowany	0,66	0,34

*Rozkład przewidywany na podstawie równania Hardy- Weinberga.

4.2. Porównanie rozkładu genotypów ADRB1 i GNB3 w grupie badanej i kontrolnej.

W wyniku porównania rozkładu badanych genotypów i alleli w analizowanej grupie w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono, iż genotyp CC ADRB1 istotnie częściej występował w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną (59,6% vs 44,8%, $p=0,0298$). Na podstawie danych umieszczonych w tabeli 9, obliczone zostało ryzyko względne zachorowania na niewydolność serca z obniżoną LVEF dla nosicieli genotypu CC. Ryzyko to wyniosło 1,33 [95% CI:(1,12–1,74), $p=0,006$].

Porównując rozkład alleli ADRB1 w obu podgrupach stwierdzono, iż częstość występowania allelu C ADRB1 była większa w grupie badanej w porównaniu z kontrolną (0,77 vs 0,68, $p=0,0518$), różnica ta pozostawała na granicy istotności statystycznej. Można więc wysnuć wniosek, że w przypadku genu ADRB1 ryzyko zachorowania na niewydolność serca zwiększa się istotnie u homozygot CC. W przypadku allelu G wykazano istotnie częstsze jego występowanie w grupie kontrolnej (0,32 vs 0,23, $p=0,0490$), co może wskazywać na jego rolę ochronną w aspekcie ryzyka wystąpienia niewydolności serca (tab. 9, 10; ryc. 1,2).

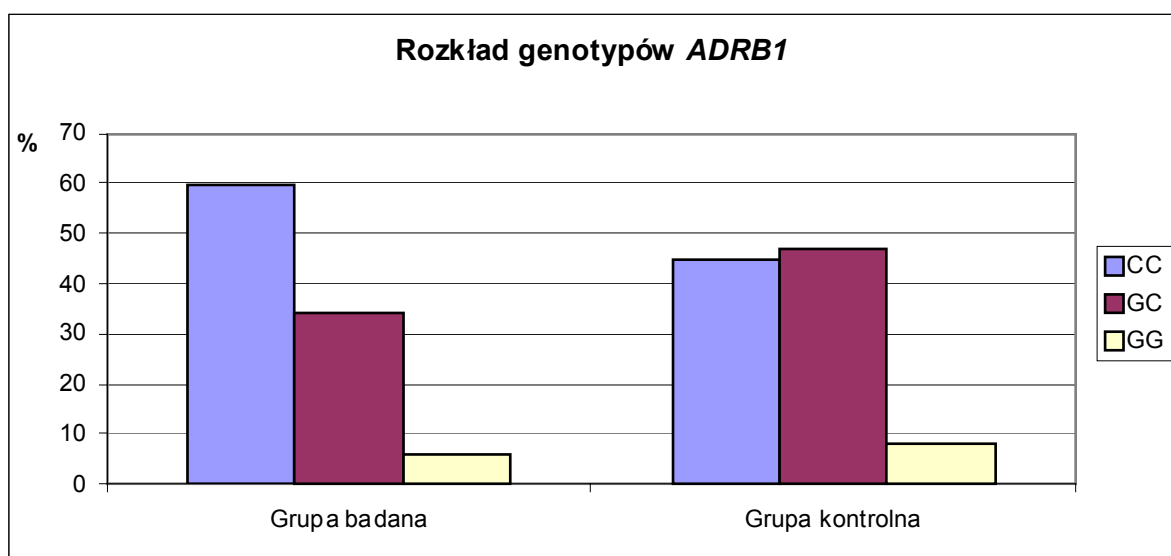
Nie wykazano różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu GNB3 pomiędzy analizowanymi podgrupami (tab. 9, 10; ryc. 3, 4).

Tabela 9. Rozkład genotypów ADRB1 i GNB3 w grupie badanej i kontrolnej.

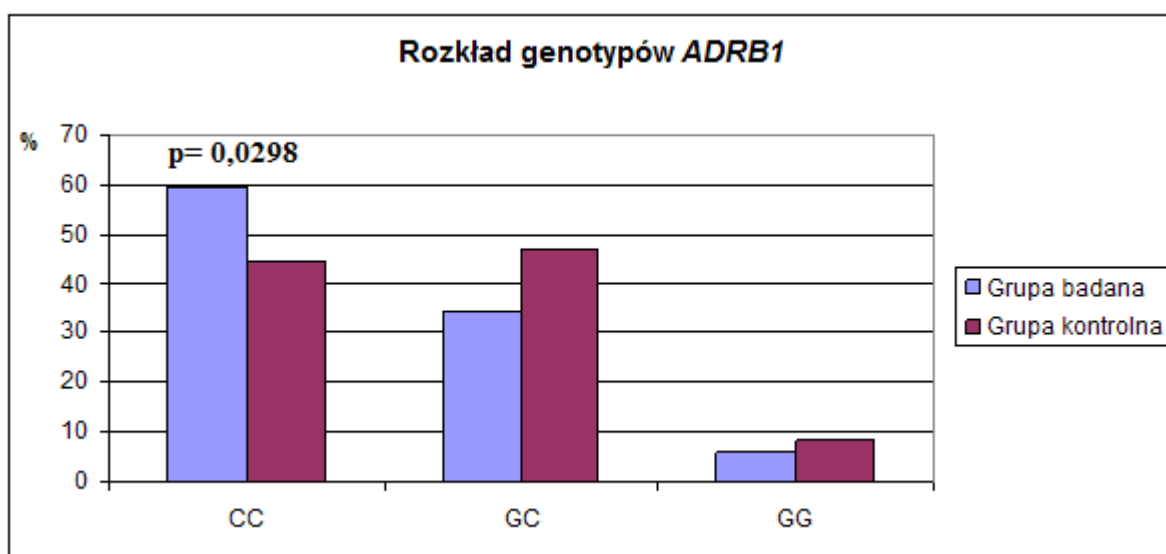
Gen	Genotyp	Grupa badana (n=114)	Grupa kontrolna (n=96)	p
ADRB1	CC	59,6%	44,8%	0,0298
	GC	34,2%	46,9%	0,0606
	GG	6,1%	8,3%	0,5342
Gen	Genotyp	Grupa badana (n=115)	Grupa kontrolna (n=96)	p
GNB3	CC	35,7%	45,8%	0,1347
	CT	51,3%	41,2%	0,1412
	TT	13,0%	13,0%	1,0000

Tabela 10. Rozkład alleli ADRB1 i GNB3 w grupie badanej i kontrolnej.

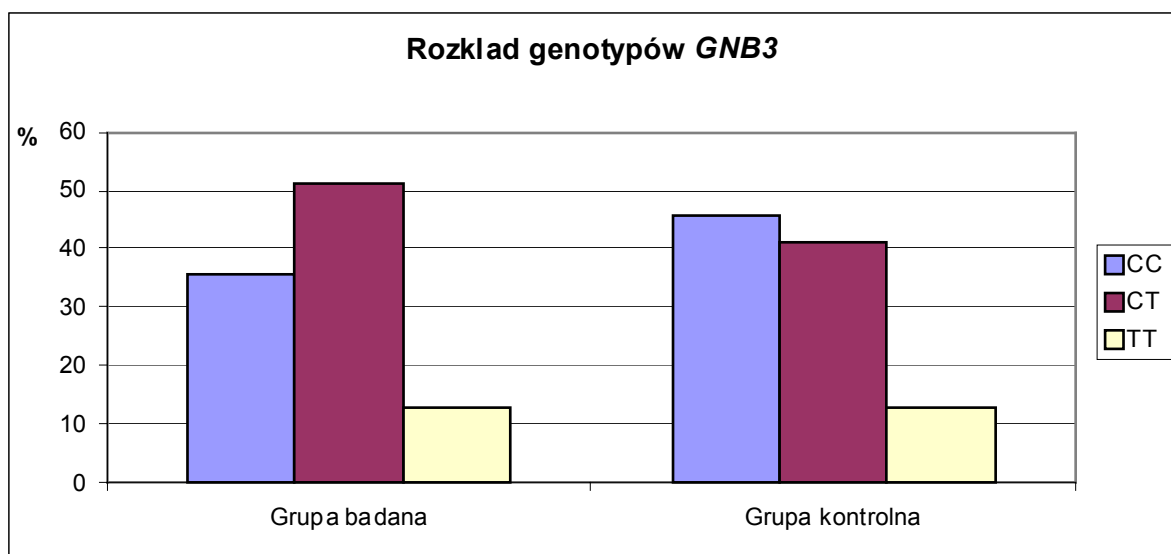
Gen	Allel	Grupa badana(n=228)	Grupa kontrolna (n=192)	p
ADRB1	C	0,77	0,68	0,0518
	G	0,23	0,32	0,0490
Gen	Allel	Grupa badana(n=230)	Grupa kontrolna (n=192)	
GNB3	C	0,61	0,67	0,2521
	T	0,39	0,33	0,2611



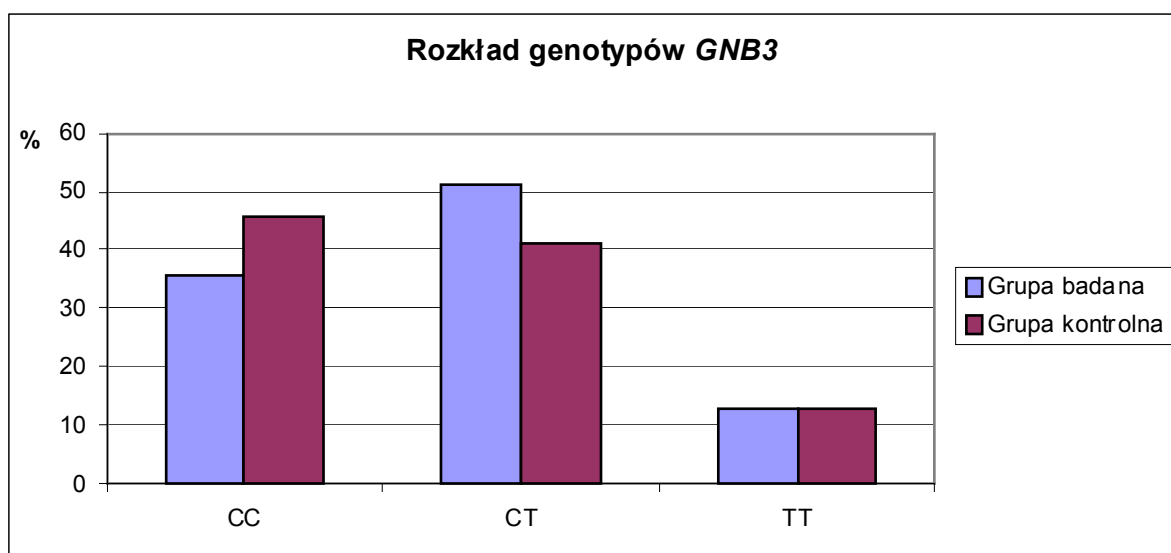
Rycina 1. Graficzna prezentacja rozkładu genotypów genu ADRB1– na osi odciętych przedstawiono porównywane grupy.



Rycina 2. Graficzna prezentacja rozkładu genotypów genu ADRB1- na osi odciętych przedstawiono analizowane genotypy.



Rycina 3. Graficzna prezentacja rozkładu genotypów genu GNB3- na osi odciętych przedstawiono porównywane grupy.



Rycina 4. Graficzna prezentacja rozkładu genotypów GNB3- na osi odciętych przedstawiono analizowane genotypy.

4.3. Charakterystyka porównawcza grupy badanej i kontrolnej- dane demograficzne.

Porównywane grupy nie różniły się istotnie pod względem wieku i płci (tab. 11).

Tabela 11. Charakterystyka demograficzna grupy badanej i kontrolnej.

Parametr	Grupa badana (n=115)	Grupa kontrolna (n=96)	p
Wiek	57 ± 12	54 ± 14	0,096
Płeć			
Kobiety	17,0 %	12,8 %	0,4239
Mężczyźni	83,0 %	87,2 %	0,4239

4.4. Charakterystyka grupy badanej.

4.4.1. Dane demograficzne i kliniczne analizowanej grupy pacjentów.

Dane demograficzne i kliniczne wszystkich chorych włączonych do badania przedstawiono w tabeli 12. Średni wiek badanych chorych wynosił 57 lat, kobiety stanowiły niewielki odsetek grupy (17%). Średnia frakcja wyrzucania lewej komory wynosiła 26%, a połowę grupy włączonej do badania sklasyfikowano jako \geq III stopień niewydolności serca wg NYHA. Choroba niedokrwienna była przyczyną niewydolności serca w 67% przypadków. 36% chorych miało w wywiadzie nadciśnienie tętnicze, 25% - cukrzycę a w 20% przypadków rozpoznawano niewydolność nerek. Utrwalone migotanie przedsionków stwierdzono w 16% przypadków.

Wszyscy pacjenci otrzymywali optymalne leczenie farmakologiczne, ACE/ARB przyjmowało 96% pacjentów, beta-adrenolityki - 98%, MRA 82% chorych. Większość chorych (78%) była również leczona statynami, a tylko 20% otrzymywało amiodaron. ICD wszczepiono w 73% przypadków, CRT-D otrzymało 27% chorych. Zdecydowaną większość grupy stanowili pacjenci, którym implantowano ICD w prewencji pierwotnej nagłego zgonu (83,5%).

Tabela 12. Charakterystyka demograficzna i kliniczna badanej grupy.

Parametr	Grupa badana (n=115)
Wiek	57 ± 12
Mężczyźni %	95 (83%)
BMI (kg/m ²)	27,7 ± 5,1
NYHA ≤ II	56 (49%)
NYHA ≥ III	59 (51%)
LVEF (%)	26 ± 10
QRS (ms)	145 ± 34
AF utrwalone	18 (16%)
LBBB	43 (37%)
VF/sVT w wywiadzie	19 (16,5%)
Prewencja pierwotna	96 (83,5%)
Choroba niedokrwienna serca	77 (67%)
DCM/ kardiomiopatia pozapalna	38 (33%)
ICD	84 (73%)
CRTD	31 (27%)
Nadciśnienie tętnicze	42 (36%)
Cukrzyca	32 (28%)
Niewydolność nerek	23 (20%)
B-bloker	113 (98%)
ACEI/ARB	110 (96%)
MRA	95 (82%)
Statyny	90 (78%)
Amiodaron	23 (20%)

BMI- wskaźnik masy ciała; NYHA- klasyfikacja niewydolności serca wg New York Heart Association; LVEF- frakcja wyrzutów lewej komory; QRS- zespół QRS; AF- migotanie przedsionków; LBBB- blok lewej odnogi pęczka Hisa; VF- migotanie komór; sVT- utrwalony częstoskurcz komorowy; ICD-wszczepielny kardiowerter-defibrylator; CRT-D- stymulator resynchronizujący z funkcją defibrylacji; ACEI- inhibitory konwertazy angiotensyny, ARB-antagoniści receptora angiotensynowego, MRA- antagonisty receptora mineralokortykoidowego.

4.4.2. Wybrane parametry laboratoryjne analizowanej grupy pacjentów.

Mediana stężenia peptydu natriuretycznego typu B w analizowanej grupie wynosiła 456 pg/ml, a mediana CRP 2,9 mg/l. 20% chorych włączonych do badania miało niewydolność nerek, a średni szacowany współczynnik przesączania kłębuszkowego wynosił 86,4 ml min/1,73m². Średnie stężenie cholesterolu całkowitego wynosiło 4,7 ± 1,2 mmol/l. Wyniki zestawiono w tabeli 13.

Tabela 13. Charakterystyka wybranych parametrów laboratoryjnych badanej grupy

Parametr	Grupa badana (n=115)
CholT (mmol/L)	4,7 ± 1,2
HDL (mmol/L)	1,3 ± 0,4
LDL (mmol/L)	2,7 ± 1,0
CRP (mg/L)	2,9 (0,3 - 102)
BNP (pg/ml)	456 (6 - 3848)
Kreatynina (µmol/l)	107,6
eGFR (ml/min/1,73m ²)	86,4 ± 34,6

CholT- cholesterol całkowity; HDL- cholesterol frakcji HDL; LDL- cholesterol frakcji LDL; CRP- białko C-reaktywne; BNP- peptyd natriuretyczny typu B; e-GFR – szacowany współczynnik przesączania kłębuszkowego.

4.4.3. Wybrane parametry badania spiroergometrycznego analizowanej grupy pacjentów.

Badanie spiroergometryczne wykonano u 84 pacjentów. Grupa u której nie wykonano badania to pacjenci, u których częściej występowała dysfunkcja narządu ruchu i choroby współistniejące. Obie grupy nie różniły się istotnie pod względem uzyskania punktu końcowego. Średnie szczytowe zużycie tlenu w badanej grupie wynosiło 17,5 ± 5,0 ml/kg/min.

Tabela 14. Charakterystyka wybranych parametrów badania spiroergometrycznego w badanej grupie.

Parametr	Grupa z wykonanym CPET (n= 84)
Peak VO ₂ (ml/kg/min)	17,5 ± 5,0
RER	1,01 (0,82 - 1,3)

Peak VO₂- szczytowe zużycie tlenu; RER- współczynnik wymiany oddechowej.

4. 5. Charakterystyka badanej grupy badanej w zależności od genotypów ADRB1 i GNB3.

4.5.1. Dane demograficzne i kliniczne badanej grupy w zależności od genotypu ADRB1.

Dane demograficzne i kliniczne wszystkich chorych włączonych do badania w zależności od genotypów ADRB1 przedstawiono w tabeli 15.

Tabela 15. Charakterystyka demograficzna i kliniczna badanej grupy w zależności od genotypu ADRB1

Parametr	CC (n=68)	GC (n=39)	GG (n=7)	p
Wiek	57±12	58 ± 12	55 ± 9	0,6786
Mężczyźni %	82,3%	84,6%	71,4%	0,8458
BMI(kg/m ²)	27,8 ± 5,4	28,1 ± 4,6	25,0 ± 3,3	0,2279
NYHA ≤ II	47 %	49 %	57 %	0,8775
NYHA ≥ III	53 %	51 %	43 %	0,8775
EF (%)	25 ± 8	25 ± 6	25 ± 8	0,6968
QRS(ms)	147 ± 35	142 ± 33	146 ± 34	0,7574
AF utrwalone	19 %	13 %	14 %	0,7316
LBBB	34 %	41 %	57 %	0,4211
VF/sVT w wywiadzie	16 %	15 %	28 %	0,5025
Prewencja pierwotna	84 %	84 %	71 %	0,6323
ICM	72 %	61 %	43 %	0,2112
DCM	28 %	15 %	57 %	0,2084
B-bloker	100%	95%	85%	0,7073
ACE/ARB	97%	97%	71%	0,2845
AA	86%	85%	43%	0,1661
Statyny	79%	82%	28,5%	0,0503
Amiodaron	20,5%	20,5%	14%	0,8860

CC- homozygota CC; GC- heterozygota GC; GG homozygota GG; BMI- wskaźnik masy ciała; NYHA- klasyfikacja niewydolności serca wg New York Heart Association; LVEF-fracja wyrzutów lewej komory; QRS- zespół QRS; AF- migotanie przedsionków; LBBB- blok lewej odnogi pęczka Hisa; VF- migotanie komór; sVT- utrwalony częstoskurcz komorowy; ICD-wszczepielny kardiowerter-defibrylator; CRT-D-stymulator resynchronizujący z funkcją defibrylacji; ACEI- inhibitory konwertazy angiotensyny, ARB- antagoniści receptora angiotensynowego, MRA- antagonist receptoru mineralokortykoidowego

Analiza porównawcza parametrów klinicznych i demograficznych w poszczególnych podgrupach nie wykazała istotnych różnic w zakresie jakiegokolwiek z badanych parametrów. Wszyscy pacjenci byli podobnie leczeni, jedynie różnica w odsetku leczonych statyną w poszczególnych podgrupach pozostawała na granicy istotności statystycznej (79,4% vs 82% vs 28,5% odpowiednio dla CC, GC, GG, $p = 0,0503$).

4.5.2. Wybrane parametry laboratoryjne w zależności od genotypu ADRB1.

Wybrane parametry laboratoryjne analizowanej grupy pacjentów w zależności od genotypów ADRB1 przedstawiono w tabeli 16. Analiza porównawcza wybranych parametrów laboratoryjnych w zależności od genotypu ADRB1 nie wykazała istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi podgrupami.

Tabela 16. Wybrane parametry laboratoryjne w grupie badanej w zależności od genotypu ADRB1.

Parametr	CC	GC	GG	p
Cholesterol całkowity (mmol/l)	4,7 ± 1,3	4,4 ± 1,0	5,3 ± 1,2	0,0975
HDL(mmol/l)	1,3 ± 0,4	1,2 ± 0,4	1,2 ± 0,2	0,8543
LDL(mmol/l)	2,7 ± 1,1	2,5 ± 0,7	3,2 ± 1,2	0,0841
CRP(mg/l)	3,3 (0,3-99,1)	2,4 (0,5-48,0)	11,0 (1,6-47,7)	0,1886
BNP(pg/ml)	460 (20,1-3848)	476 (6,38-2443,0)	514 (18,5-1537)	0,9186
Kreatynina (μmol/l)	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,3	1,1 ± 0,4	0,7004

CC- homozygota CC; GC- heterozygota GC; GG homozygota GG; CholT- cholesterol całkowity; HDL- cholesterol frakcji HDL; LDL- cholesterol frakcji LDL; CRP- białko C- reaktywne; BNP- peptyd natriuretyczny typu B.

4.5.3. Dane demograficzne i kliniczne badanej grupy w zależności od genotypów GNB3.

Dane demograficzne i kliniczne analizowanej grupy chorych w zależności od genotypu GNB3 przedstawiono w tabeli 17. Analiza porównawcza parametrów klinicznych i demograficznych w zależności od genotypu GNB3 nie wykazała istotnych różnic pomiędzy

poszczególnymi podgrupami. Wyjątkiem okazała się częstość występowania bloku lewej odnogi w poszczególnych podgrupach. Analiza rozkładu częstości występowania LBBB wykazała, że istnieje istotna różnica w strukturze jego występowania pomiędzy co najmniej dwoma genotypami. Dalsza analiza post-hoc potwierdziła, iż LBBB występował znacząco częściej w podgrupie CT w porównaniu z podgrupą CC (odpowiednio 49% vs 24%, p=0,0116).

Tabela 17. Charakterystyka demograficzna i kliniczna badanej grupy w zależności od genotypów GNB3.

Parametr	CC (n=41)	CT (n=59)	TT (n=15)	p
Wiek [lata]	57 ± 11	58 ± 5	58 ± 13	0,9287
Mężczyźni%	83,0%	84,7%	73,3%	0,7854
BMI(kg/m ²)	27,7 ± 4,9	27,8 ± 5,5	27,7 ± 4,7	0,9812
NYHA ≤ II	46%	51%	53%	0,8945
NYHA ≥ III	54%	49%	47%	0,8945
EF(%)	26 ± 6	24 ± 7	25 ± 7	0,8914
QRS(ms)	140 ± 36	152 ± 33	135 ± 29	0,0921
AF utrwalone	19%	15%	13%	0,8362
LBBB	24%	49%	26,6%	<u>0,0284</u>
VF/sVT w wywiadzie	19,5%	13,5%	28,0%	0,7032
Prewencja pierwotna	80%	86%	88%	0,7000
ICM	66%	71%	53%	0,4184
DCM	34%	29%	47%	0,4152
ICD	83%	69%	80%	0,9402
CRT-D	17%	30,5%	20%	0,1783
B-bloker	97,5%	98%	93,3%	0,3338
ACE/ARB	93%	95%	100%	0,6691
AA	85%	80%	87%	0,5537
Statyny	76%	81%	73%	0,7878
Amiodaron	19,5%	22%	20%	0,9655

CC- homozygota CC; CT- heterozygota CT; TT- homozygota TT; BMI- wskaźnik masy ciała; NYHA- klasyfikacja niewydolności serca wg New York Heart Association; LVEF-frakcja wyrzutów lewej komory; QRS- zespół QRS; AF- migotanie przedsionków; LBBB- blok lewej odnogi pęczka Hisa; VF- migotanie komór; sVT- utrwalone częstoskurcz komorowy; ICD-wszczepielny kardiowerter-defibrylator; CRT-D-stymulator resynchronizujący z funkcją defibrylacji; ACEI- inhibitory konwertazy angiotensyny, ARB- antagoniści receptora angiotensynowego, MRA- antagonist receptoru mineralokortykoidowego.

4.5.4 . Wybrane parametry laboratoryjne w zależności od genotypu GNB 3.

Wybrane parametry laboratoryjne analizowanej grupy pacjentów w zależności od genotypu GNB3 przedstawiono w tabeli 18. W wyniku przeprowadzonej analizy nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi podgrupami w zakresie wybranych parametrów laboratoryjnych.

Tabela 18. Wybrane parametry laboratoryjne w grupie badanej w zależności od genotypu GNB3

Parametr	CC (n=41)	CT (n=59)	TT (n=15)	p
TChol(mmol/l)	4,8 ± 1,3	4,7 ± 1,2	4,3 ± 0,7	0,3145
HDL(mmol/l)	1,3 ± 0,5	1,3 ± 0,4	1,2 ± 0,2	0,3006
LDL(mmol/l)	2,8 ± 1,1	2,7 ± 0,9	2,4 ± 0,6	0,4111
CRP(mg/l)	3,6 (0,6-48,0)	3,6 (0,3-99,1)	2,3 (0,5-69,3)	0,1410
BNP(pg/ml)	361 (18,5-2851,3)	536 (44,3-3848,0)	380 (6,38-2443,0)	0,3706
Kreatynina	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,4	1,0 ± 0,3	0,1710

CC- homozygota CC; CT- heterozygota CT; TT- homozygota TT , CholT- cholesterol całkowity; HDL- cholesterol frakcji HDL;LDL- cholesterol frakcji LDL; CRP- białko C- reaktywne; BNP- peptyd natriuretyczny typB.

4.6 .Charakterystyka badanej grupy w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji ICD (parametry demograficzne, kliniczne i laboratoryjne).

Podczas obserwacji odległej badanej grupy, której mediana wynosiła 364 dni (zakres od 9 do 671 dni) zmarło 10 pacjentów (w tym 8 z powodu postępującej niewydolności serca). Adekwatne interwencje wystąpiły u 25 chorych, co stanowi 21,5% badanej grupy. Nieadekwatne interwencje wystąpiły u 18 chorych (15,6%), 15 z nich doświadczyło wyładowania z powodu migotanie /trzepotania przedsionków z szybką czynnością komór, 1 z powodu tachykardii zatokowej, a w przypadku 2 chorych wyładowanie było wynikiem nieprawidłowego zliczania załamek T (oversensing T). Złożony punkt końcowy (adekwatna interwencja ICD/zgon z przyczyn sercowo- naczyniowych) wystąpił u 31 pacjentów, co stanowiło 26,9% analizowanej grupy chorych.

4.6.1. Dane kliniczne i demograficzne analizowanej grupy w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji ICD.

W tabeli 19 przedstawiono dane kliniczne i demograficzne w analizowanych podgrupach w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji .

Tabela 19. Charakterystyka parametrów klinicznych i demograficznych grupy badanej w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji.

Parametr	Grupa z AI (n=25)	Grupa bez AI (n=90)	p
Wiek	55 ± 10	58,2 ± 12,2	0,3747
Mężczyźni%	92 %	80 %	0,1641
BMI(kg/m ²)	27,1 ± 5,1	27,9 ± 5,1	0,4825
NYHA ≤ II	49 %	48 %	0,9437
NYHA ≥ III	51 %	52 %	0,9437
EF [%]	22 ± 6	27 ± 10	0,0190
QRS [ms]	147 ± 32	145 ± 35	0,7974
AF	4,0 %	20 %	0,0082
LBBB	38 %	36 %	0,8545
ICM	67 %	68 %	0,9029
DCM	33 %	32 %	0,8955
Prewencja pierwotna	86 %	76 %	0,2549
sVT/VF w wywiadzie	14 %	24 %	0,2549
peak VO ₂ (ml/kg/min)	16,5 ± 4,6	17,8 ± 5,1	0,6863
ICD	73 %	72 %	0,8972
CRTD	29 %	28 %	0,9377
Beta bloker	99%	96 %	0,3547
ACE/ARB	95 %	100 %	0,3118
MRA	80 %	96 %	0,0082
Amiodaron	21 %	20 %	0,9049
Statyny	77,8 %	76 %	0,8493

BMI- wskaźnik masy ciała; NYHA- klasyfikacja niewydolności serca wg New York Heart Association; LVEF- frakcja wyrzutów lewej komory; QRS- zespół QRS; AF- migotanie przedsionków; LBBB- blok lewej odnogi pęczka Hisa; VF- migotanie komór; sVT- utrwalony częstoskurcz komorowy; PeakVO₂- szczytowe zużycie tlenu ICD-wszczepielny kardiowerter-defibrylator.; CRT-D- stymulator resynchronizujący z funkcją defibrylacji; ACEI- inhibitory konwertazy angiotensyny, ARB- antagoniści receptora angiotensynowego, MRA- antagonisty receptora mineralokortykoidowego.

Analizowane podgrupy różniły się istotnie pod względem LVEF. Pacjenci, u których wystąpiła adekwatna interwencja mieli znamienne niższe wartości LVEF ($22 \pm 6\%$ vs $27 \pm 10\%$, $p=0,0190$) w porównaniu z pozostałymi. W grupie tej istotnie rzadziej występowało również utrwalone migotanie przedsionków (4% vs 20% , $p=0,0233$). W grupie z adekwatnymi wyładowaniami odsetek pacjentów leczonych MRA był niższy w porównaniu z pozostałymi (odpowiednio 80% vs 96% , $p=0,0082$). Nie zaobserwowano znamienych różnic pod względem wieku, płci, stopnia zaawansowania niewydolności serca oraz jej etiologii. W obu podgrupach porównywalny był również odsetek chorych, którym wszczepiono ICD w prewencji wtórnej.

W tabeli 20 porównano pacjentów z utrwalonym migotaniem przedsionków z chorymi, u których stwierdzano rytm zatokowy. Istotnie więcej adekwatnych interwencji wystąpiło w podgrupie z rytmem zatokowym. U pacjentów z utrwalonym migotaniem przedsionków istotnie częstsze były interwencje nieadekwatne z powodu epizodów szybkiego migotania/trzepotania przedsionków. Obliczone ryzyko względne wystąpienia adekwatnych interwencji w grupie pacjentów z utrwalonym migotaniem przedsionków wyniosło: $HR=0,22$ [95% CI:(0,03-1,55)]. Oznacza to że utrwalone migotanie przedsionków zmniejsza wystąpienie adekwatnych wyładowań 4,5 razy. Z uwagi na wartość przedziału ufności (0,03-1,55), wynik ten nie uzyskał istotności statystycznej.

Tabela 20. Charakterystyka porównawcza grupy z AF vs rytm zatokowy w zależności od rodzaju interwencji ICD .

Interwencje	AF utrw (n=18)	RZ (n=97)	p
adekwatne (n=25)	(1) 4,0 %	(24) 24,7%	<u>0,0496</u>
nieadekwatne (n= 15)	(6) 33,0 %	(9) 9,3 %	<u>0,0060</u>

AF- migotanie przedsionków, RZ- rytm zatokowy.

4.6.2. Wybrane parametry laboratoryjne analizowanej grupy w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji ICD.

Porównanie wybranych parametrów laboratoryjnych w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji przedstawiono w tabeli 21. W analizowanych podgrupach stwierdzono istotną statystycznie różnicę w stężeniu BNP i cholesterolu całkowitego. Pacjenci z grupy adekwatnych interwencji mieli znacznie wyższe stężenie BNP (763,6 pg/ml vs 418 pg/ml, p= 0,0447). Odwrotną zależność zaobserwowano w odniesieniu cholesterolu, którego średnie stężenie było wyższe u pacjentów bez interwencji ($4,8 \pm 1,2$ mmol/l vs $4,2 \pm 0,8$ mmol/l, p= 0,0406).

Tabela 21. Charakterystyka laboratoryjna badanej grupy w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji ICD.

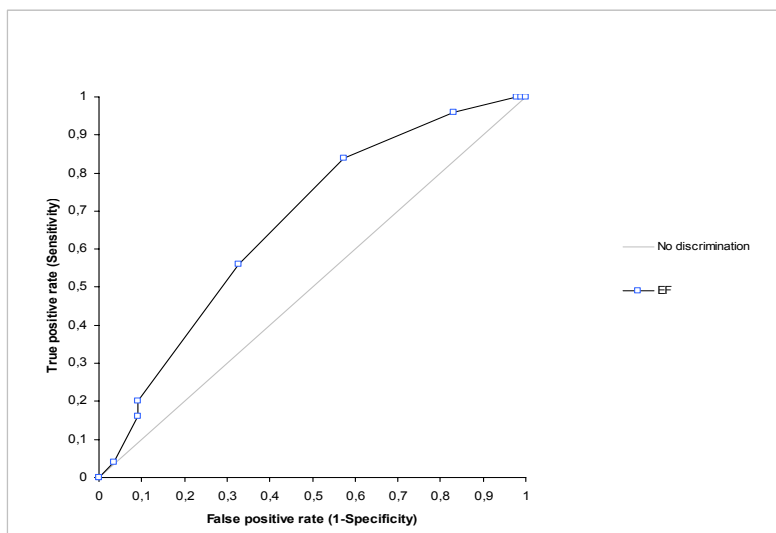
Parametr	Grupa z AI (n=25)	Grupa bez AI (n=90)	p
CholT (mmol/l)	$4,2 \pm 0,8$	$4,8 \pm 1,2$	<u>0,0203</u>
HDL (mmol/l)	$1,2 \pm 0,5$	$1,3 \pm 0,4$	0,5051
LDL (mmol/l)	$2,4 \pm 0,7$	$2,8 \pm 1,0$	0,0636
CRP (mg/l)	2,4 (1,7 – 99,1)	3,0 (0,5 – 71,0)	0,7070
BNP (pg/ml)	763,6 (6,4 – 2834,0)	418 (18,5 – 3848,0)	<u>0,0447</u>
Kreatynina (μ mol/l)	$0,91 \pm 0,32$	$0,96 \pm 0,57$	0,5683
K (mmol/l)	$4,3 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,4$	0,7343

CholT- cholesterol całkowity; HDL- cholesterol frakcji HDL; LDL- cholesterol frakcji LDL; CRP- białko C-reaktywne; BNP- peptyd natriuretyczny typu B; K- potas

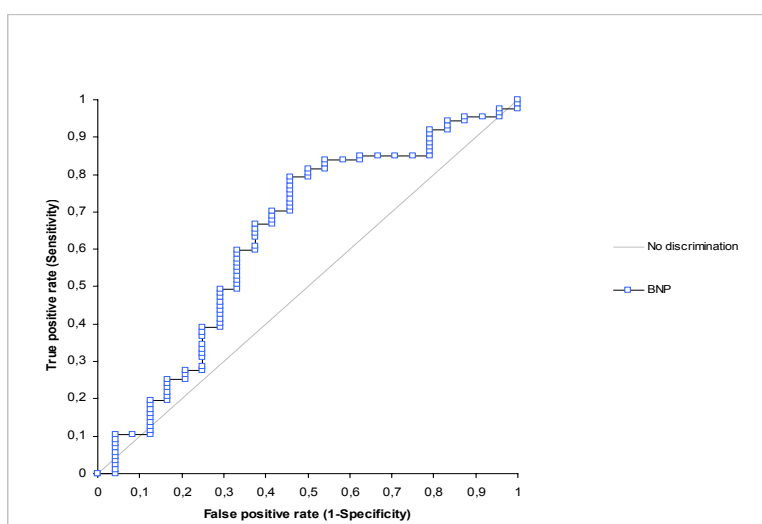
4.6.3. Wyniki analizy ROC (receiver operating characteristic curves).

Przy pomocy analizy ROC wyznaczono wartości odcięcia wybranych parametrów, które według powyższych obliczeń najlepiej prognozują wystąpienia adekwatnej interwencji. Analizę ROC przeprowadzono dla LVEF (Ryc. 5), BNP (Ryc. 6) i cholesterolu całkowitego (Ryc. 7). Wykazano istotność statystyczną w prognozowaniu przeżycia bez interwencji ICD dla wszystkich analizowanych parametrów. Wartość rokownicza LVEF, BNP i cholesterolu całkowitego była porównywalna (na podstawie wartości pola pod krzywą AUC) , parametrem o

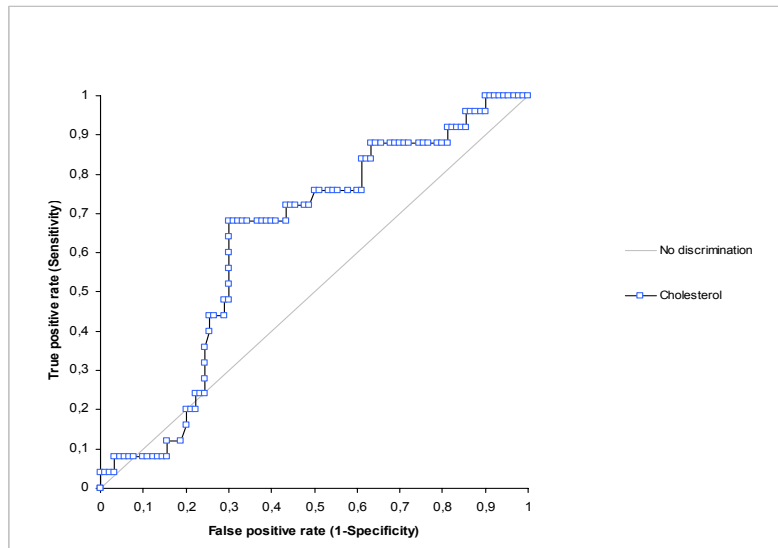
najwyższej wartości rokowniczej była LVEF (AUC 0,67). Parametrem o największej czułości i swoistości był cholesterol całkowity (czułość 68%, swoistość 70%) (Tab. 22).



Rycina 5. Wykres krzywej ROC dla LVEF. AUC=0,67 p=0,0015.



Rycina 6. Wykres krzywej ROC dla BNP. AUC=0,63 p=0,0286.



Rycina 7. Wykres krzywej ROC dla cholesterolu całkowitego. AUC=0,63 p=0,0128.

Tabela 22. Zestawienie wyników analizy ROC.

Parametr	Punkt odcięcia	Czułość (95%PU)	Swoistość (95% PU)	AUC	p
LVEF (%)	≤ 25%	56%	67%	0,67	<u>0,0015</u>
BNP (pg/ml)	≥ 569,9	67%	63%.	0,63	<u>0,0286</u>
Tchol(mmol/l)	≤ 4,28	68 %	70%.	0,63	<u>0,0128</u>

LVEF- frakcja wyrzutowa lewej komory; BNP- peptyd natriuretyczny typu B, T chol- cholesterol całkowity

4.6.4. Modele regresji Coxa.

W celu ilościowej oceny wpływu wybranych parametrów na wystąpienie adekwatnych wyładowań u pacjentów z wszczepionym ICD, zastosowano analizę opartą na modelu regresji logistycznej w ujęciu jedno i wieloczynnikowym. Przy użyciu jednoczynnikowego modelu regresji Coxa wyszczególniono parametry, które w sposób istotny zwiększały ryzyko adekwatnej interwencji ICD (Tab. 23).

Analiza wykazała, że w ujęciu jednoczynnikowym na ryzyko wystąpienia adekwatnych interwencji istotny wpływ miały: LVEF (p= 0,0097) oraz stężenie cholesterolu całkowitego (p=0,028). Wzrost LVEF o 1% zmniejszał ryzyko wystąpienia AI 1,1- krotnie. Z kolei wzrost stężenia cholesterolu całkowitego o 1 mmol/l powodował 1,6- krotne zmniejszenie ryzyka

wystąpienia AI. Biorąc pod uwagę wyliczoną dla BNP wartość ryzyka względnego (HR= 1,0; 95% CI [1,0-8,1]; p=0,002) należy podkreślić, iż w tej analizie BNP miało znaczenie obojętne w prognozowaniu ryzyka adekwatnej interwencji.

Tabela 23. Zestawienie wyników analizy jednoczynnikowej na modelu regresji logistycznej Coxa- uwzględniono wyłącznie parametry które istotnie zwiększały ryzyko AI.

Parametr	HR	95% CI	p
BNP (pg/ml)	1,001	1,0-8,1	<u>0,002</u>
Tchol (mmol/l)	0,614	0,38-0,94	<u>0,028</u>
LVEF (%)	0,916	0,84-0,97	<u>0,009</u>

Otrzymane wyniki potwierdzono w analizie wieloczynnikowej, jej wyniki przedstawiono w poniższej tabeli:

Tabela 24. Zestawienie wyników analizy wieloczynnikowej na modelu proporcjonalnego hazardu Coxa. Wartość p dla modelu wieloczynnikowego = 0,0018.

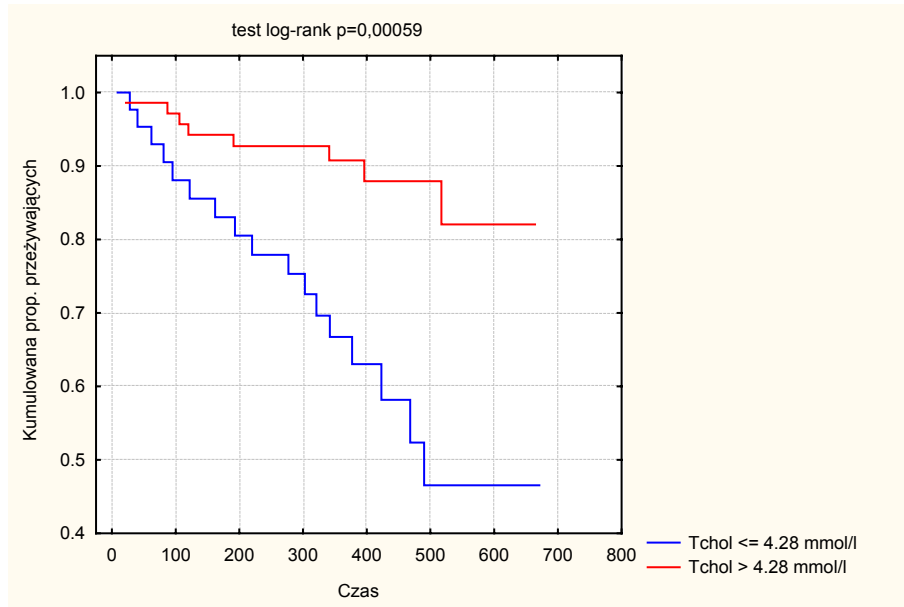
Parametr	HR	95% CI	p
Tchol (mmol/l)	0,625	0,4-0,9	<u>0,033</u>
LVEF (%)	0,922	0,8-0,9	<u>0,014</u>

W tej analizie na ryzyko wystąpienie adekwatnych interwencji miały wpływ, podobnie jak w analizie jednoczynnikowej, LVEF oraz stężenie cholesterolu. Można więc wnioskować, iż tylko te dwa parametry są w moim badaniu istotnymi, niezależnymi czynnikami ryzyka jej wystąpienia.

4.6.5. Analiza czasu do pierwszego wyładowania przy pomocy krzywych Kaplana-Meiera dla BNP, cholesterolu całkowitego i LVEF.

Korzystając z wyznaczonej w analizie ROC wartości odcięcia dla cholesterolu całkowitego ($\leq 4,28$ mmol/l) w prognozowaniu adekwatnej interwencji ICD, przeprowadzono analizę czasu do wystąpienia adekwatnej interwencji w dwóch podgrupach chorych (grupa I-chorzy z Tchol $\leq 4,28$ mmol/l; grupa II chorzy z Tchol $> 4,28$ mmol/l). Krzywe Kaplana-Meiera obrazujące czas do pierwszego wyładowania w zależności od stężenia cholesterolu całkowitego

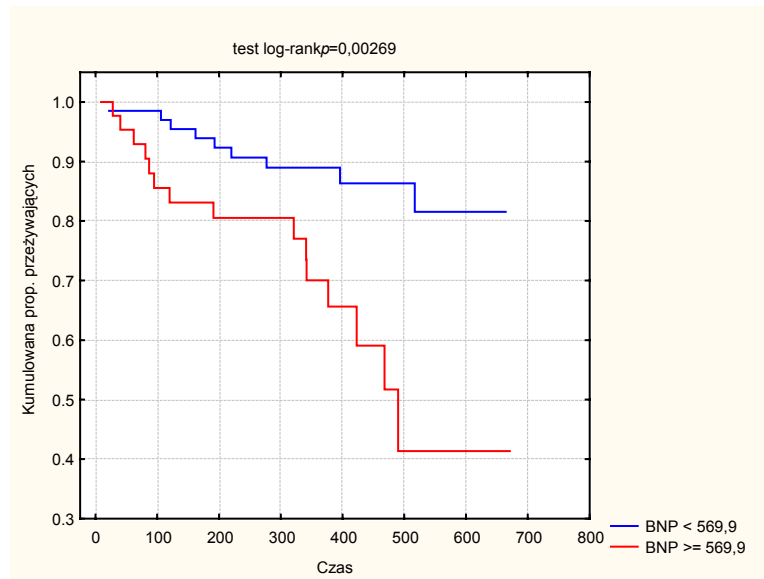
przedstawiono na rycinie 8. Prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji w ciągu 12 miesięcy obserwacji wynosiło 66,3% w grupie pacjentów z Tchol \leq 4,28 mmol/l , a w grupie z Tchol $>$ 4,28 mmol/l 90,1%, $p=0,0015$.



Rycina 8. Krzywe Kaplana-Meiera pokazujące czas do wystąpienia adekwatnej interwencji ICD w zależności od stężenia cholesterolu całkowitego.

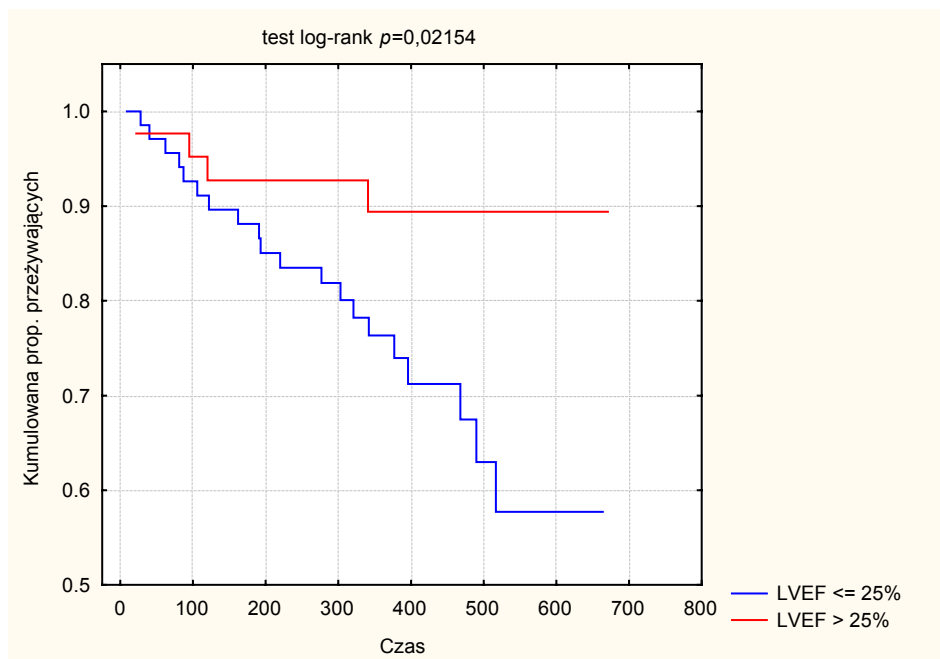
Kolejną analizę przeprowadzono w dwóch podgrupach w zależności od stężenia BNP. Grupę badaną podzielono na dwie podgrupy, korzystając z wyznaczonej w analizie ROC wartości odcięcia dla BNP (\geq 569,9 pg/ml). Grupę I stanowili chorzy u których stężenie BNP wynosiło \geq 569,9pg/ml, do grupy II zakwalifikowano chorych ze stężeniem BNP \leq 569,9 pg/ml. Krzywe Kaplana- Meiera obrazujące czas do 1 wyładowania w zależności od stężenia BNP przedstawiono na rycinie 9.

Prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji w ciągu 12 miesięcy obserwacji w grupie chorych z BNP \geq 569,9 pg/ml wyniosło 69,7% natomiast w grupie z BNP \leq 569,9 pg/ml 88,9%, $p=0,0102$.



Rycina 9. Krzywe Kaplana-Meiera pokazujące czas do wystąpienia adekwatnej interwencji ICD w zależności od stężenia BNP.

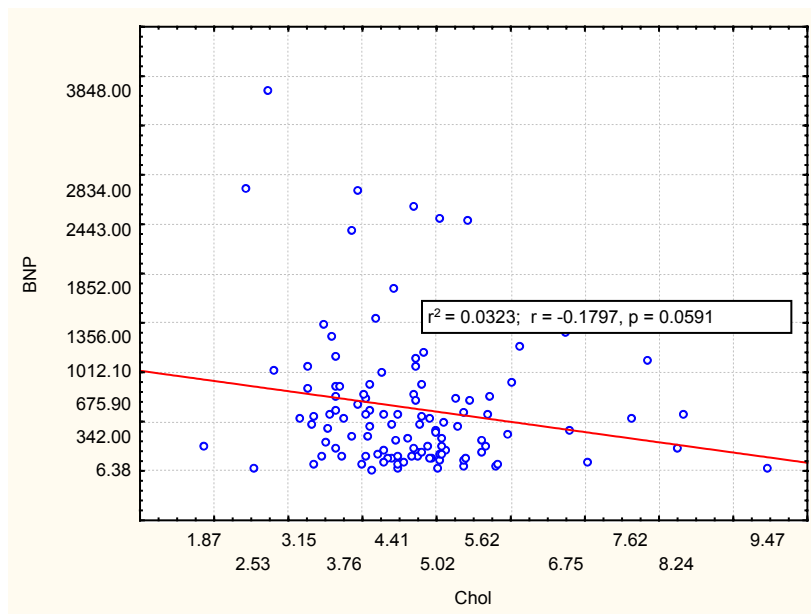
Ostatnią analizę przeprowadzono w dwóch podgrupach pacjentów w zależności od wielkości LVEF. Do podziału badanej grupy na 2 podgrupy wykorzystano LVEF wyznaczoną w analizie ROC. Prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji podczas 12 miesięcznego okresu obserwacji w grupie chorych z $LVEF \leq 25\%$ wyniosło 76,1% w porównaniu z 89,1% w grupie w której LVEF wynosiła $\geq 25\%$, $p=0,0215$. Krzywe Kaplana-Meiera przedstawiające czas przeżycia do 1 wylądowania w zależności od LVEF przedstawiono na rycinie 10.



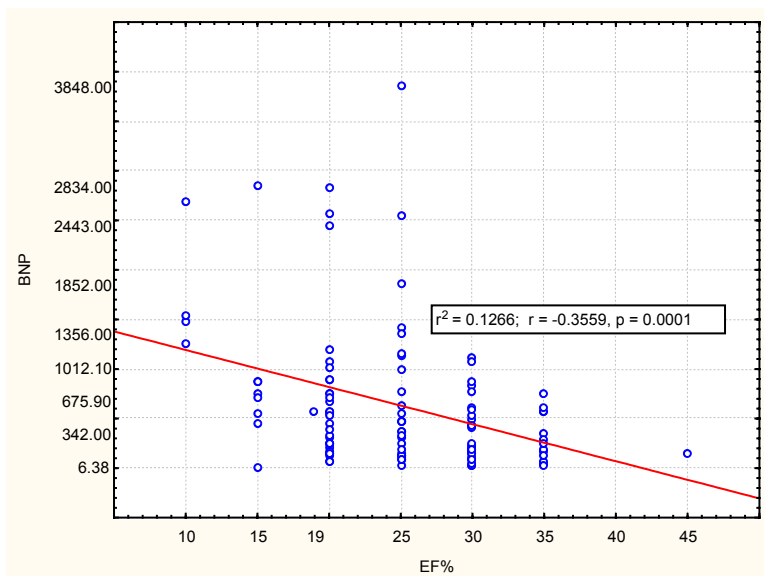
Rycina 10. Krzywe Kaplana-Meiera pokazujące w okresie obserwacji czas do wystąpienia adekwatnej interwencji ICD w zależności od LVEF.

4.6.6. Analiza korelacji.

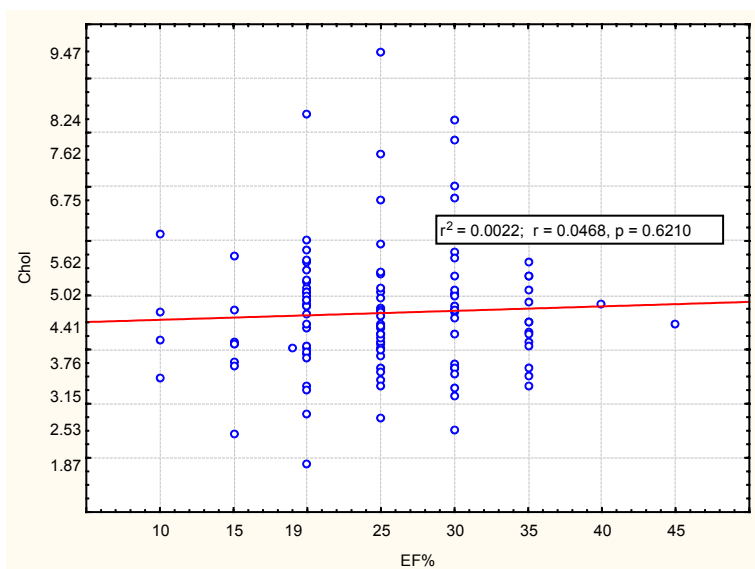
W celu oceny związku pomiędzy parametrami, które istotnie wpływały na ryzyko wystąpienia adekwatnej interwencji przeprowadzono analizę korelacji Spearmana. Wykonane analizy wykazały brak korelacji pomiędzy stężeniem BNP a stężeniem cholesterolu całkowitego w badanej grupie pacjentów ($r^2=0,0323$, $p=0,059$) (Ryc. 11). Wraz ze wzrostem frakcji wyrzutowej zaobserwowano zmniejszanie się stężenia BNP. Korelacja ta ma jednak charakter nikły ($r^2=0,126$) pomimo $p=0,0001$ (ryc. 12). Analiza korelacji pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego a LVEF nie wykazała związku pomiędzy tymi parametrami (Ryc. 13). Zmienne są niezależne od siebie ($r^2=0,0022$) i mogą być traktowane jako niezależne od siebie predyktory wystąpienia adekwatnej interwencji ICD.



Rycina11. Analiza korelacji pomiędzy stężeniem BNP a cholesterolu całkowitego.



Rycina 12. Analiza korelacji pomiędzy stężeniem BNP oraz LVEF.



Rycina 13. Analiza korelacji pomiędzy stężeniem cholesterolu i LVEF.

4.7. Charakterystyka genetyczna badanej grupy w zależności od wystąpienia pierwszorzędnego punktu końcowego (adekwatne interwencji ICD) oraz złożonego punktu końcowego (zgon z przyczyn sercowo- naczyniowych/ adekwatna interwencja ICD).

W tabeli 25. przedstawiono rozkład genotypów GNB3 w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji ICD. W wyniku przeprowadzonej analizy nie zaobserwowano istotnych różnic w rozkładzie badanych genotypów GNB3 w zależności od wystąpienia lub braku adekwatnej interwencji. Godnym uwagi jest fakt, iż w podgrupie AI homozygota CC występowała rzadziej w porównaniu z grupą bez interwencji (20% vs 40%, $p = 0,0674$). Różnica ta nie osiągnęła jednak istotności statystycznej. Można również zauważyć, iż u chorych, którzy

doświadczyli wyładowania częściej wstępowały homo- jak i heterozygoty z allelem T (80% vs 60%, p=0,0674).

Tabela 25. Rozkład genotypów GNB3 w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji

Genotyp	Grupa AI (n=25)	Grupa bez AI (n= 90)	p
CC %	20,0%	40,0%	0,0674
CT%	64,0%	47,7%	0,1519
TT %	16,0%	12,3%	0,6286
CC+CT %	84,0%	87,7%	0,6185
CT+TT %	80,0%	60,0%	0,0674

Analiza rozkładu genotypów GNB3 w zależności od uzyskania złożonego punktu końcowego (zgon z przyczyn sercowo- naczyniowych /adekwatna interwencja ICD) wykazała istotną różnicę w częstości występowania homozygoty CC (Tabela 26). W grupie pacjentów którzy zmarli lub doświadczyli adekwatnej interwencji genotyp ten występował w 19,3% w porównaniu z 41,7% w podgrupie żyjących bez interwencji (p= 0,0280). Istotna jest również różnica w częstości występowania genotypów CT, stwierdzano je częściej u pacjentów którzy osiągnęli złożony punkt końcowy (67,7% vs 45,2%, p=0,0343). Podobną zależność wykazano dla wszystkich nosicieli allelu T. Odsetek chorych z allelem T (CT+TT) był znamienne wyższy u chorych, którzy zmarli lub mieli interwencję ICD w porównaniu z żyjącymi bez interwencji (80,7% vs 58,3%, p= 0,0263). W świetle porównywalnej częstości występowania homozygoty TT pomiędzy tymi dwoma grupami, nie można jednak wnioskować, iż allel T wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zgonu/ adekwatnej interwencji.

Tabela 26. Rozkład genotypów GNB3 w badanej grupie w zależności od wystąpienia złożonego punktu końcowego.

Allel	Złożony punkt końcowy (n=31)	Grupa żyjących bez AI (n= 84)	p
CC %	19,3 %	41,7 %	0,0280
CT %	67,7 %	45,2 %	0,0343
TT %	13,0 %	13,1 %	0,9888
CC+CT %	87,0 %	86,9 %	0,9888
CT+TT %	80,7 %	58,3 %	0,0263

W wyniku przeprowadzonej analizy nie zaobserwowano istotnych różnic w rozkładzie badanych genotypów ADRB1 w zależności od wystąpienia lub braku adekwatnej interwencji (Tabela 27).

Porównanie grupy pacjentów, u których wystąpił złożony punkt końcowy z grupą chorych żyjących, u których nie obserwowano interwencji urządzenia również nie wykazało istotnych różnic w zakresie rozkładu badanych genotypów ADRB1 (Tabela 28).

Tabela 27. Rozkład genotypów ADRB1 w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji ICD.

Genotyp	Grupa AI (n=25)	Grupa bez AI (n= 89)	p
CC %	60,0 %	59,6 %	0,9713
GC%	36,0 %	33,7 %	0,8308
GG %	4,0 %	6,7 %	0,6194
CC+GC %	96,0%	94,4%	0,7387
GC+GG %	40,0%	40,4%	0,9713

Tabela 28. Rozkład genotypów ADRB1 w badanej grupie w zależności od wystąpienia złożonego punktu końcowego.

Allel	Złożony punkt końcowy (n=31)	Grupa żyjących bez AI (n= 83)	p
CC %	61,3 %	59,0 %	0,8242
GC%	32,2 %	35,0 %	0,7797
GG %	6,5 %	6,0 %	0,9213
CC+GC %	93,5 %	94,0 %	0,9213
GC+GG %	38,7 %	41,0 %	0,8242

4.8. Ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego (adekwatnej interwencji ICD / zgon z przyczyn sercowo- naczyniowych) w zależności od genotypów GNB3 i ADRB1.

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, iż obecność genotypu CC zmniejsza ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego 2,9- krotnie (HR=0,34 [95% CI(0,12-0,91) p= 0,02191]. Genotyp CT zwiększa ryzyko osiągnięcia złożonego punktu końcowego 2,54- krotnie (HR=2,54,[1,12-6,14], p=0,03062), natomiast nosicielstwo allelu T (CT+TT) powodowało 2,97- krotny wzrost ryzyka zgonu/adekwatnej interwencji. Trudno jednak wnioskować o negatywnym wpływie allelu T na ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego w aspekcie analizy przeprowadzonej dla homozygoty TT, której obecność nie miała żadnego wpływu na ryzyko jego wystąpienia (Tabela 29).

Tabela 29. Ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego w zależności od genotypów GNB3 i ADRB1.

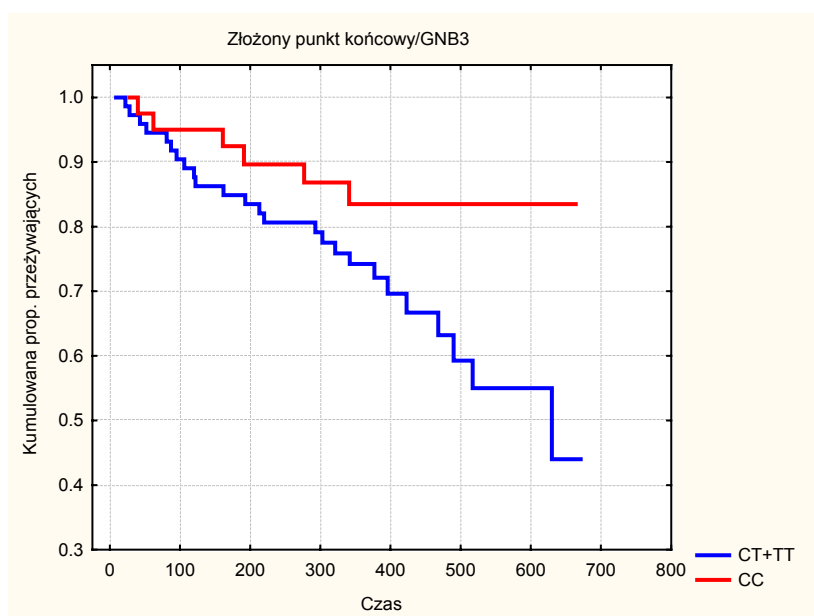
Gen	Genotyp	HR	95% CI	p
GNB3	CC	0,34	0,12 - 0,91	<u>0,0219</u>
	CT	2,54	1,12 – 6,14	<u>0,0306</u>
	TT	0,98	0,28 – 3,41	0,9783
	CC+CT	0,98	0,37 – 2,54	0,9786
	CT+TT	2,97	1,22 – 5,73	<u>0,0219</u>
ADRB1	CC	1,04	0,83 – 1,30	0,4505
	GC	1,04	0,76 – 1,42	0,4376
	GG	1,42	0,72 – 2,34	0,3932
	CC+GC	1,07	0,19 – 5,84	0,9329
	GC+GG	0,91	0,38 – 1,14	0,8269

4.9. Analiza prawdopodobieństwa przeżycia bez adekwatnej interwencji oraz prawdopodobieństwa nie wystąpienia adekwatnej interwencji w zależności od badanych genotypów- krzywe Kaplana-Meiera.

4.9.1. Prawdopodobieństwo przeżycia bez adekwatnej interwencji oszacowane za pomocą krzywych Kaplana- Meiera.

Korzystając z przeprowadzonej analizy rozkładu genotypów GNB3 w zależności od uzyskania złożonego punktu końcowego (zgon z przyczyn sercowo- naczyniowych /adekwatna interwencja ICD), wykreślono krzywe przeżycia Kaplana- Meiera pokazujące prawdopodobieństwo przeżycia bez adekwatnej interwencji w zależności od genotypów GNB3.

Czas przeżycia bez adekwatnej interwencji był znacznie dłuższy u homozygot CC w porównaniu z pozostałymi genotypami. Prawdopodobieństwo przeżycia bez adekwatnej interwencji podczas 12 miesięcznego okresu obserwacji wynosiło w przypadku nosicielstwa genotypu CC 83%, natomiast 74% dla pozostałych genotypów (CT+TT), $p=0,0301$ (Rycina 14).

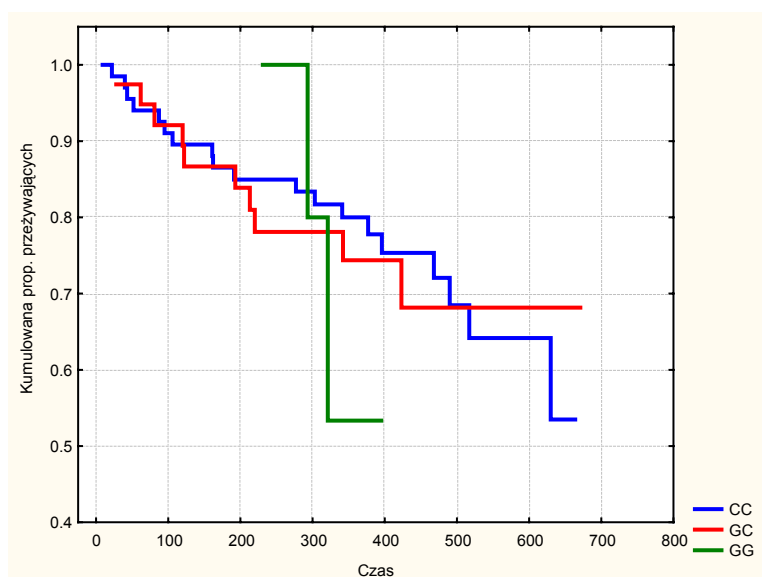


Rycina 14. Krzywe przeżycia Kaplana-Meiera przedstawiające prawdopodobieństwo przeżycia bez adekwatnej interwencji w okresie obserwacji w zależności od genotypów CC vs CT+TT GNB3, $p=0,0345$.

4.9.2. Analiza prawdopodobieństwa braku adekwatnej interwencji- krzywe Kaplana-Meiera dla genotypów ADRB1 i GNB3.

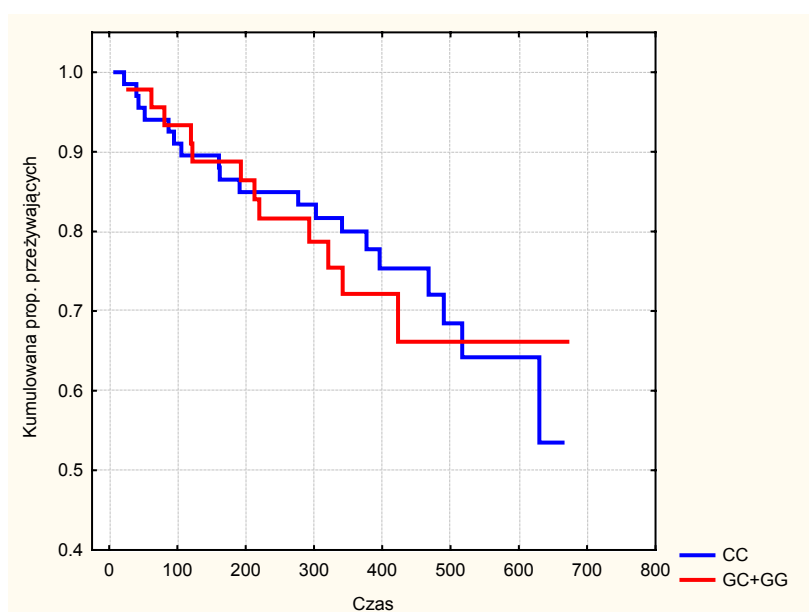
Przy pomocy testu log- rank oraz krzywych Kaplana- Meiera przeprowadzono analizę prawdopodobieństwa nie wystąpienia adekwatnej interwencji w zależności od genotypów ADRB1 i GNB3.

Dokonana analiza statystyczna dla genu ADRB1 nie wykazała istotnych różnic w czasie do wystąpienia adekwatnego wyładowania dla genotypów CC, GC, GG (Rycina 15).



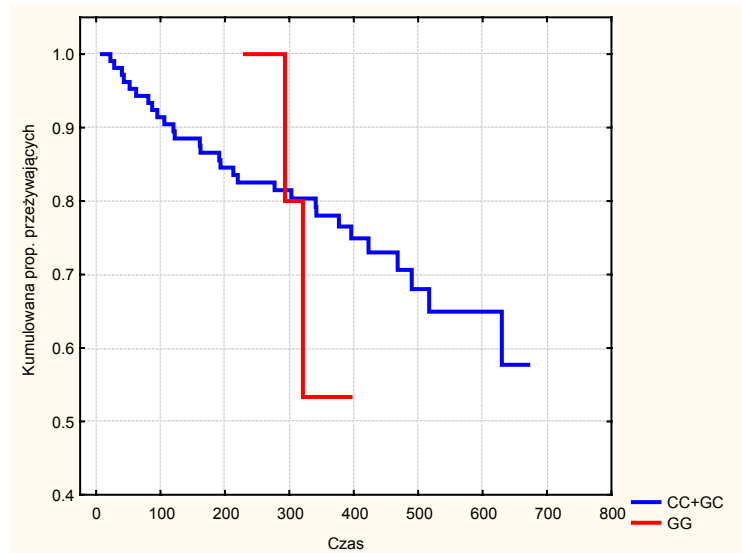
Rycina 15. Krzywe Kaplana-Meiera przedstawiające w okresie obserwacji prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji w zależności od genotypów CC vs GC vs GG ADRB1. Parametry wykresu: $\chi^2 = 0,16$ $p=0,921$.

Dokonana analiza statystyczna dla genu ADRB1 nie wykazała istotnej różnicy w czasie do wystąpienia adekwatnego wyładowania dla genotypu CC w porównaniu z GC+ GG (Rycina 16).



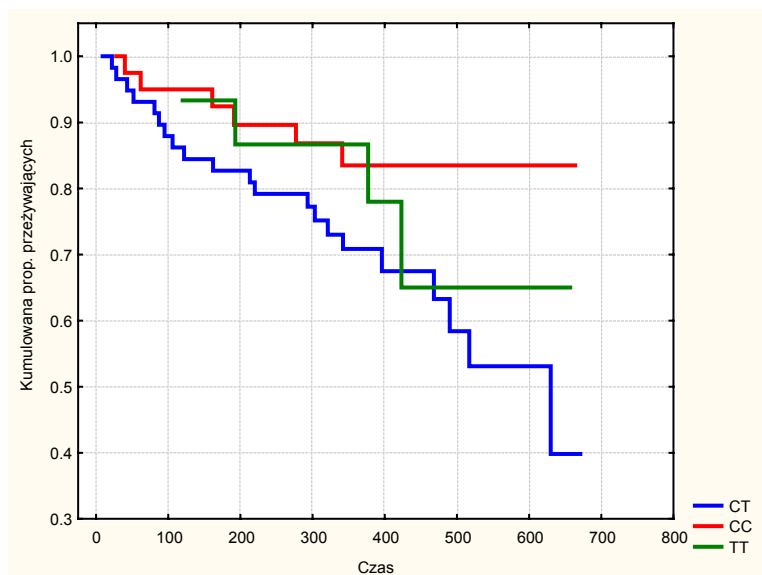
Rycina 16. Krzywe Kaplana-Meiera przedstawiające w okresie obserwacji prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji w zależności od genotypów CC vs GC + GG ADRB1. Parametry: $Z=0,392$ $p=0,694$.

Dokonana analiza statystyczna dla genu GNB3 nie wykazała istotnej różnicy w czasie do wystąpienia adekwatnego wyładowania dla genotypu GG w porównaniu z kombinacją CC+GC. Można jednak zauważyć trend w kierunku dłuższego czasu bez adekwatnej interwencji u nosicieli allelu C (Rycina 17).



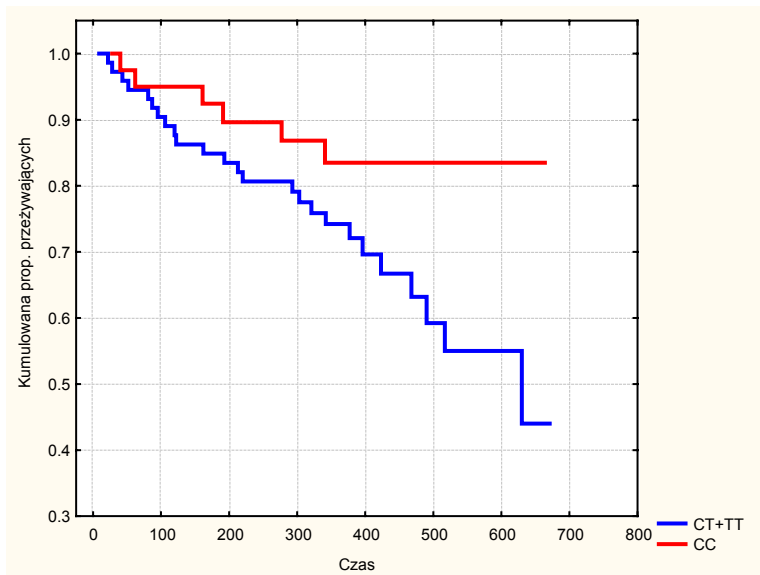
Rycina 17. Krzywe Kaplana-Meiera przedstawiające w okresie obserwacji prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji w zależności od genotypów GG vs GC + CC ADRB1. Parametry: $Z=0,03$ $p=0,975$.

Dokonana analiza statystyczna dla genu GNB3 nie wykazała istotnej różnicy w czasie do wystąpienia adekwatnej interwencji dla genotypu CC vs CT vs TT (Rycina 18).

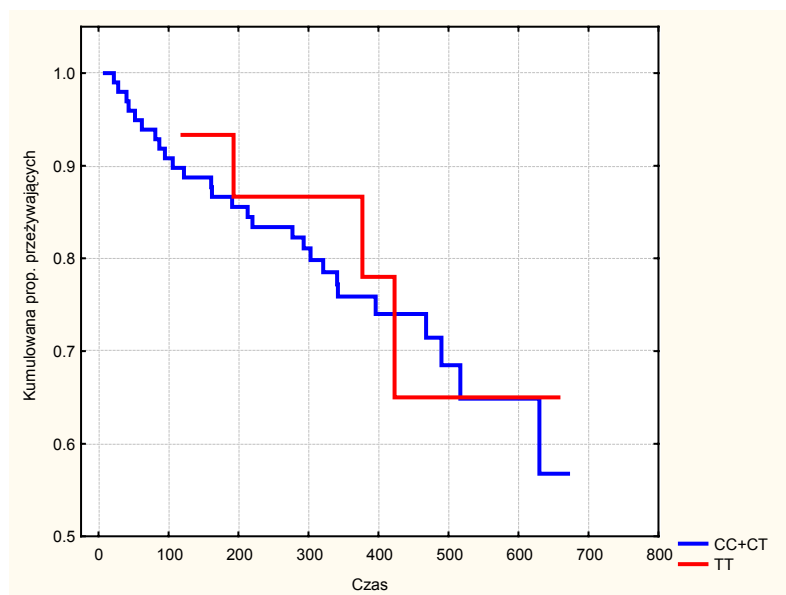


Rycina 18. Krzywe Kaplana-Meiera przedstawiające w okresie obserwacji prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji w zależności od genotypów CC vs CT vs TT GNB3. Parametry: $\chi^2 = 3,14$ $p=0,207$.

Dokonana analiza statystyczna dla genu GNB3 nie wykazała istotnej różnicy w czasie do wystąpienia adekwatnego wyładowania dla genotypu CC vs CT + TT. Niemniej graficzna prezentacja krzywych ukazała interesujący trend. Po upływie 300 dni od implantacji ICD krzywe wyraźnie się rozchodzą. Może to świadczyć o tym, iż nosicielstwo homozygoty CC powoduje wydłużenie czasu do interwencji. Możliwe iż wydłużenie okresu obserwacji wykazałoby utrzymanie się zaobserwowanego trendu, a różnica pomiędzy krzywymi osiągnęłaby istotność statystyczną. (Rycina19).



Rycina 19. Krzywe Kaplana-Meiera przedstawiające w okresie obserwacji prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji w zależności od genotypów CC vs CT + TT GNB3. Parametry: $Z = 1,29$ $p=0,034$.



Rycina 20. Krzywe Kaplana-Meiera przedstawiające w okresie obserwacji prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji w zależności od genotypów CC + CT vs TT GNB3. Parametry: $Z = -0,456$, $p=0,648$.

Dokonana analiza statystyczna dla genu GNB3 nie wykazała istotnej różnicy w czasie do wystąpienia adekwatnego wyładowania dla genotypu TT vs CC + CT (Rycina 20).

5. Dyskusja

W wyniku przeprowadzonej analizy stwierdziłam, że genotyp CC genu ADRB1 występuje istotnie częściej w grupie pacjentów z niewydolnością serca w porównaniu z grupą kontrolną. Polimorfizm ADRB1 pozostawał jednak bez wpływu na rokowanie u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca, którym implantowano kardiowerter-defibrylator lub stymulator resynchronizujący z funkcją defibrylacji. Nie stwierdziłam różnic w częstości występowania poszczególnych wariantów polimorficznych genu GNB3 między chorymi z niewydolnością serca i grupą kontrolną. Wyniki badań sugerują natomiast jego wpływ na rokowanie w badanej grupie chorych. Homozygota CC GNB3 występowała istotnie częściej u pacjentów, którzy przeżyli i nie doświadczyli adekwatnej interwencji ICD, co może wskazywać na ochronną rolę tego genotypu w kontekście ryzyka zgonu /adekwatnej terapii ICD.

Spośród innych parametrów klinicznych i laboratoryjnych istotną wartość rokowniczą miały: obniżona LVEF, obniżone stężenie cholesterolu całkowitego oraz w nieco mniejszym stopniu podwyższone stężenie BNP. Parametry te miały znamienny wpływ na występowanie komorowych zaburzeń rytmu skutkujących adekwatną terapią ICD.

Nie wykazałam istotnego wpływu klasy NYHA, szerokości zespołu QRS, obecności LBBB, oraz peak VO₂ na występowanie adekwatnych interwencji ICD. Stwierdziłam natomiast, iż chorzy z grupy adekwatnych interwencji byli istotnie rzadziej leczeni antagonistą receptora mineralokortykoidowego (MRA).

Zwiększona aktywność układu adrenergicznego jest jednym z podstawowych mechanizmów patofizjologicznych odpowiedzialnych za rozwój i progresję niewydolności serca i ma bez wątpienia istotny wpływ na występowanie zaburzeń rytmu serca [105,106,107,108]. Polimorfizmy genów kodujących białka receptorów beta-adrenergicznych i związane z nimi białka regulatorowe mogą więc znacząco wpływać na czułość i gęstość tych receptorów [106,107], a tym samym, poprzez wzmożoną aktywację adrenergiczną predysponować do rozwoju niewydolności serca, zwiększać ryzyko jej progresji oraz usposabiać do nagłego zgonu [76].

Mutacja punktowa w genie ADRB1, występująca w około 30% populacji ogólnej, polega na wymianie cytozyny (C) na guaninę (G) w 1165 nukleotydzie łańcucha DNA i skutkuje zamianą argininy (Arg) na glicynę (Gly) w 389 pozycji łańcucha białkowego receptora β 1 [75]. Mason i wsp. [76] wykazali w badaniach *in vitro*, iż obecność Arg w pozycji 389 łańcucha białkowego receptora β 1 wiąże się z większą aktywnością cyklazy adenylowej w

kardiomiocytach w odpowiedzi na stymulację receptora jego agonistą, w porównaniu z wariantem z Gly. Autorzy podkreślali, iż polimorfizm ADRB1 może być przyczyną różnic w mechanizmach patogenetycznych leżących u podłoża rozwoju niewydolności serca, ale również wiązać się ze zróżnicowaną odpowiedzią na leczenie beta-adrenolitykami. Wyniki badań nad wpływem tego polimorfizmu na predyspozycję do rozwoju niewydolności serca wciąż pozostają niespójne. Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują na genotyp CC jako predysponujący do wystąpienia niewydolności serca. Porównując grupę badaną (n=115) z grupą kontrolną, którą stanowili zdrowi krwiodawcy (n=96) stwierdziłam istotną statystycznie różnicę w częstości jego występowania pomiędzy analizowanymi grupami. U pacjentów z niewydolnością serca genotyp ten stwierdzano w 59,6% procentach przypadków, w grupie kontrolnej natomiast występował w 44,8% (p=0,0298). Wykazałam, że genotyp CC ADRB1 wiąże się ze zwiększonym o 1,33 razy [95% CI:(1,12–1,74)] ryzykiem zachorowania na niewydolność serca. Ponadto stwierdziłam, że allel C występuje częściej u chorych z niewydolnością serca - różnica ta pozostawała jednak na granicy istotności statystycznej (0,77 vs 0,68; p= 0,0518). Można zatem wnioskować, iż ryzyko zachorowania na niewydolność serca zwiększa się znamienne tylko u homozygot CC. W świetle wyników badań Masona i wsp. [76] wariant z arginina w pozycji 389 (allel C) wiąże się z trzykrotnie większą aktywnością cykazy adenylowej, a więc ze wzrostem wrażliwości receptora β 1 na działanie jego agonistów, co mogłoby wyjaśniać mechanizm negatywnego wpływu genotypu CC na występowanie niewydolności serca. Należy jednak pamiętać, iż badania Masona zostały wykonane w warunkach *in vitro*. Istnieją jednak badania kliniczne pośrednio potwierdzające wyniki doświadczeń Masona. Potwierdziły one zależność pomiędzy polimorfizmem ADRB1 a niektórymi parametrami hemodynamicznymi, takimi jak spoczynkowa częstość serca (HR), która była istotnie większa u nosicieli allelu C (Arg) [111,112,113]. Odmienne od moich są wyniki Metry i wsp. [79]. Porównał on grupę 260 pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory (LVEF \leq 40%) z 230 osobami zdrowymi, stanowiącymi grupę kontrolną. Częstość występowania homozygot CC ADRB1 w populacji badanej wynosiła 46,2%, a grupie kontrolnej 53,1% (p= ns). Nie wykazał on znamiennej różnicy w częstości występowania alleli pomiędzy analizowanymi grupami [79]. Podobne wyniki uzyskali Covolo i wsp. [80], którzy analizowali częstość występowania poszczególnych genotypów ADRB1 w 2 podgrupach, u chorych z niewydolnością serca (n=256) i w grupie kontrolnej (n=230). Brak zgodności pomiędzy wynikiem mojej pracy a wynikami cytowanych autorów może wynikać z różnic w charakterystyce klinicznej i demograficznej ocenianych chorych. W grupie analizowanej przez Covolo i wsp. pacjenci z chorobą niedokrwinną serca stanowili niespełna 50%, pozostali chorzy

mieli rozpoznaną kardiomiopię rozstrzeniową, podczas gdy w mojej grupie u większości rozpoznano chorobą niedokrwienną (67%). Mniejszy był również odsetek kobiet (9% vs 17%). Żaden z cytowanych wyżej autorów nie precyzował stopnia zawansowania niewydolności serca, średniej LVEF i innych parametrów klinicznych charakteryzujących badane populacje, nie można zatem wykluczyć iż chorzy ci różnili się istotnie od badanych przeze mnie po względem podstawowych parametrów klinicznych. Biolo i wsp., podobnie jak poprzedni badacze, nie zaobserwowali różnic w rozkładzie genotypów ADRB1 porównując grupę 201 chorych z przewlekłą niewydolnością serca z grupą 141 zdrowych ochotników. Do badania tego włączono jednak, oprócz pacjentów z chorobą niedokrwienną i kardiomiopatią rozstrzeniową, chorych z niewydolnością serca w przebiegu nadciśnienia tętniczego, czym grupa ta różniła się od mojej [96]. Wpływ polimorfizmu ADRB1 na występowanie kardiomiopatii rozstrzeniowej w populacji polskiej analizowała Pączkowska i wsp. [114]. Porównywała ona rozkład genotypów i alleli tego genu u chorych z DCM z ich rozkładem u zdrowych dawców krwi, nie stwierdzając różnic w częstości ich występowania między tymi grupami. W swojej pracy nie badała ona jednak związku polimorfizmu ADRB1 z występowaniem niewydolności serca w przebiegu DCM [114].

Nagła śmierć sercowa jest częstym mechanizmem zgonu w populacji pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca. Wzmoczona aktywacja adrenergiczna bez wątplenia promuje występowanie arytmii komorowej. Częstoskurcz komorowy i migotanie komór są przyczyną nagłego zgonu w 75-80% przypadków [11]. Polimorfizmy genów kodujących białka receptora β 1 adrenergicznego oraz związane z nim białka regulatorowe, mogą w sposób istotny zmieniać jego odpowiedź na agonistę, predysponując do wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu bądź stanowić czynnik ochronny. W mojej pracy analizowałam wpływ poszczególnych wariantów polimorficznych genu ADRB1 oraz GNB3 na występowanie komorowych zaburzeń rytmu skutkujących adekwatną terapią ICD w populacji pacjentów z niewydolnością serca.

Analizując rozkład genotypów ADRB1 w zależności od wystąpienia adekwatnej interwencji ICD, nie znalazłam istotnych różnic w częstości ich występowania. Nie było również znamiennych różnic w ich rozkładzie w zależności od wystąpienia złożonego punktu końcowego (adekwatne interwencje ICD/ zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych). Żaden z alleli/genotypów ADRB1 nie wpływał na czas do wystąpienia pierwszej interwencji ICD oraz na czas przeżycia bez wyładowania w badanej grupie chorych. W świetle uzyskanych przeze mnie wyników wydaje się, że polimorfizm ADRB1 wykazuje znamienny wpływ na predyspozycję do wystąpienia niewydolności serca z obniżoną LVEF, nie wpływa jednak istotnie na rokowanie w badanej grupie. Nieco odmienne wyniki zaprezentowali Biolo i wsp. [77], którzy w cytowanym już badaniu analizowali wpływ polimorfizmu genu ADRB1 na

rokowanie w grupie 201 pacjentów z niewydolnością serca. Autorzy zaobserwowali korzystny wpływ nosicielstwa homozygoty GG na przeżycie. Ryzyko zgonu u nosicieli pozostałych genotypów było 2,3 razy większe w porównaniu z nosicielami genotypu GG (HR 2,3; 95%CI [1,1-4,7]; p=0,03). W badaniu tym u homozygot GG istotnie rzadziej rejestrowano w 24-godzinnym badaniu EKG metodą Holtera epizody nsVT (17% vs 48%, p=0,015). Żaden z nosicieli homozygoty GG nie zmarł podczas średnio 40 miesięcznego okresu obserwacji. Autorzy wykazali natomiast negatywny wpływ na przeżycie nosicielstwa allelu C, a efekt ten był zredukowany zastosowaniem dużych dawek beta-adrenolityków. Wyniki badań Biolo i wsp. nie są spójne z moimi. Należy jednak zauważyć, iż badana przez nich grupa istotnie różniła się od mojej w zakresie stopnia zaawansowania niewydolności serca, jej etiologii oraz danych demograficznych. Wśród chorych włączonych do badania pacjenci rasy kaukaskiej stanowili zaledwie 68% , w porównaniu z moją grupą większy był również odsetek kobiet. Zdecydowaną większość chorych pozostawiała w I i II klasie NYHA, w przeciwieństwie do badanych przeze mnie pacjentów, którzy byli w II i III stopniu zaawansowania niewydolności serca wg klasyfikacji NYHA. W grupie Biolo i wsp. znaleźli się również pacjenci z niewydolnością serca w przebiegu nadciśnienia tętniczego, których ja nie włączyłam do badania.

Supresyjny wpływ allelu G na występowanie komorowych zaburzeń rytmu zaobserwował też Iwai i wsp. u 163 pacjentów z DCM [97]. Genotypy z allelem G stwierdzano w tym badaniu istotnie częściej wśród chorych, u których nie zarejestrowano w badaniu holterowskim arytmii komorowej w porównaniu z tymi, u których rejestrowano epizody VT (0,46 vs 0,24, p=0,001). Nosicielstwo allelu G (GG i GC) zmniejszało 3,4- krotnie ryzyko wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu w 24 godzinnym badaniu EKG metodą Holtera (HR= 0,29; 95%CI [0,13-0,64]; p= 0,002). W odróżnieniu od cytowanego badania, zdecydowaną większość mojej grupy stanowili chorzy z chorobą niedokrwienną serca (67%), a metodą oceny występowania epizodów arytmii komorowej była analiza zapisów z pamięci ICD. Iwai kwalifikował jako VT epizody nieutralowanego częstoskurczu komorowego (co najmniej 3 VEB o częstości ≥ 100 /minutę). Nie można zatem porównywać pracy Iwai z moją w kontekście oceny występowania arytmii komorowej, gdyż w swoim badaniu odnotowywałam tylko te epizody VT/VF które skutkowały wyładowaniem wysokoenergetycznym lub ATP (częstoskurcz komorowy o częstości powyżej progu detekcji urządzenia, który najczęściej programowano $>167/176$ /min lub migotanie komór). Nie brałam pod uwagę samoograniczających się epizodów nsVT, które uznałam za nieistotne hemodynamicznie.

W innych badaniach oceniających wpływ polimorfizmu ADRB1 na rokowanie w przewlekłej niewydolności serca wyniki są spójne z moimi i nie wskazują na występowanie

takiej zależności. White i wsp. [81] badali wpływ allelu G na występowanie złożonego punktu końcowego (zgon /hospitalizacja) w populacji pacjentów z niewydolnością serca. Grupę badaną stanowiło 600 chorych włączonych do badania MERIT-HF. Obecność allelu G nie wpływała na zmniejszenie ryzyka zgonu/hospitalizacji z powodu niewydolności serca w porównaniu z wariantem CC (ArgArg) (HR=0,94, 95%CI [0,69-1,29], p= 0,72). Autorzy, opierając się na wynikach badań Masona [85], założyli, iż nosicielstwo tego allelu może mieć efekt porównywalny do działania beta-adrenolityków. Wyniki ich badań nie potwierdziły jednak tej tezy. Allel G nie wpływał na ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego, w przeciwieństwie do metoprololu, który w sposób istotny ryzyko to obniżał (HR 0,60; 95%CI [0,44-0,83],p= 0,002). Autorzy nie badali jednak, w przeciwieństwie do mnie, zależności pomiędzy poszczególnymi genotypami ADRB1 a występowaniem zdarzeń arytmicznych u chorych z niewydolnością serca. Nie porównywali również wpływu nosicielstwa allelu G do działania metoprololu w aspekcie zdarzeń arytmicznych. Rozpatrując efekt działania beta-adrenolityków w kontekście polimorfizmu ADRB1, nie sposób nie wspomnieć o doniesieniach, w których podkreślano znamienne lepszy efekt ich działania u nosicieli allelu C (Arg). Biolo i wsp. w swojej pracy [77], aby zbadać potencjalny związek allelu C (Arg) z odpowiedzią na działanie beta-adrenolityków, porównywali wpływ dużych dawek tych leków na występowanie epizodów nsVT w zależności od poszczególnych genotypów ADRB1. Wykazali statystycznie istotną redukcję epizodów arytmii u nosicieli allelu C otrzymujących duże dawki leku w porównaniu z małymi dawkami, efekt ten nie był aż tak znamienny u nosicieli allelu G (Gly). W mojej pracy nie badałam relacji pomiędzy stosowanym leczeniem farmakologicznym i jego efektem w aspekcie polimorfizmu ADRB1. Chorzy otrzymywali beta-adrenolityki według zaleceń ESC, w maksymalnych tolerowanych dawkach, niezależnie od genotypu, a odsetek leczonych tym lekiem w każdej podgrupie był porównywalny (100% vs 95% vs 85%, p= 0,7073). Nie wykazałam również różnic w odsetku chorych leczonych beta-adrenolitykiem w zależności od braku lub wystąpienia adekwatnej interwencji (95% vs 100%, p= 0,3118).

W badaniu de Grote i wsp. [82] polimorfizm Gly 389 Arg ADRB1 był jednym z kilku badanych. Autor nie stwierdził zależności pomiędzy jego występowaniem a przeżyciem u 444 pacjentów z niewydolnością serca. Nie analizował występowania zdarzeń arytmicznych, wśród zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych wyszczególnił jednak liczbę zgonów nagłych. Żaden z badanych przez niego polimorfizmów, w tym również ADRB1, nie wpływał na występowanie wszystkich zgonów sercowo naczyniowych, co pozostaje spójne z wynikami mojej pracy zakładając, że chorzy, którzy doświadczyli adekwatnej interwencji, bez wszczepionego urządzenia zmarli by nagle.

Nagła śmierć sercowa jest częstym mechanizmem zgonu w populacji pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca. Wzmoczona aktywacja adrenergiczna bez wątpienia promuje występowanie arytmii komorowej. Częstoskurcz komorowy i migotanie komór są przyczyną nagłego zgonu w 75-80% przypadków [12]. Polimorfizmy genów kodujących białka receptora β 1- adrenergicznego oraz związane z nim białka regulatorowe, mogą w sposób istotny zmieniać jego odpowiedź na agonistę, predysponując do wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu bądź stanowić czynnik ochronny.

W mojej pracy badałam wpływ poszczególnych wariantów polimorficznych genu ADRB1 oraz GNB3 na występowanie komorowych zaburzeń rytmu skutkujących adekwatną terapią ICD w populacji pacjentów z niewydolnością serca, nie wykazując takiej zależności. Chemello i wsp. [100] analizując występowanie adekwatnych terapii ICD (definiowanych jako jakiegokolwiek wyładowanie wysokoenergetyczne lub terapia ATP w odpowiedzi na tachyarytmię komorową), badali ich związek z poszczególnymi wariantami polimorficznymi ADRB1 i GNB3. Do badania włączyli 73 pacjentów z niewydolnością serca i średnią LVEF 35%. Podobnie jak ja, w odniesieniu do polimorfizmu ADRB1, autorzy nie wykazali znamiennej różnicy w liczbie wyładowań wśród nosicieli allelu C (Arg), zarówno w postaci homo-, jak i heterozygot, w porównaniu z genotypem GG (GlyGly) ($p=0,09$). Zauważyli jednak wyraźny trend w kierunku większej liczby interwencji u nosicieli tego allelu ($p=0,09$). W przeciwieństwie do cytowanych autorów w mojej pracy nie analizowałam liczby wyładowań w odniesieniu do poszczególnych genotypów, odnotowywałam tylko fakt ich wystąpienia. Nie zauważyłam jednak różnic w rozkładzie tych genotypów pomiędzy chorymi z AI w porównaniu z grupą pacjentów bez interwencji. Genotypy z allelem C (CC+GC) występowały w podobnym odsetku w obu podgrupach (96% vs 94,4%, $p=0,7387$).

Analizując rozkład poszczególnych genotypów drugiego z badanych polimorfizmów - GNB3, nie wykazałam znamiennego wpływu żadnego z nich na występowanie adekwatnych interwencji, choć w podgrupie AI homozygoty CC występowały rzadziej w porównaniu z grupą bez interwencji (20% vs 40%, $p=0,0674$). Różnica ta nie osiągnęła jednak istotności statystycznej. Można było również zauważyć iż u chorych, którzy doświadczyli wyładowania częściej występowały homo- jak i heterozygoty z allelem T (80% vs 60%, $p=0,0674$), trend ten pozostaje spójny z wynikami badań cytowanego autora. W pracy Chemello i wsp. [100] allelem zwiększającym ryzyko adekwatnej interwencji był allel T. Autorzy zauważyli istotną statystycznie różnicę w liczbie wyładowań wśród nosicieli tego allelu (TT+CT), w porównaniu z genotypem CC, $p=0,02$. Badacze, opierając się na wynikach własnych badań założyli więc, iż w odniesieniu do genu ADRB1 allelem ryzyka jest allel C (Arg), natomiast za allel ryzyka

GNB3 uznali allel T. Analizując kombinacje tych genotypów, wykazali znamienne różnicę w czasie przeżycia bez adekwatnej interwencji pomiędzy 2 podgrupami. W pierwszej z nich znaleźli się chorzy bez - lub z jednym genotypem ryzyka, do grupy drugiej zakwalifikowano pacjentów z 2 genotypami ryzyka. W okresie obserwacji, którego mediana wynosiła 484 dni pacjenci z ≤ 1 genotypem ryzyka byli wolni od adekwatnych wyładowań istotnie częściej w porównaniu z nosicielami 2 genotypów ryzyka (54% vs 87%, $p=0,0006$). W mojej pracy nie analizowałam tego, w jaki sposób na ryzyko adekwatnych interwencji wpływa kombinacja tych genotypów, ponieważ nie stwierdziłam istotnego wpływu na badany punkt końcowy żadnego z badanych polimorfizmów. Badałam natomiast w jaki sposób wpływają one na złożony punkt końcowy, jakim był zgon z przyczyn sercowo- naczyniowych oraz adekwatna interwencja ICD. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdziłam istotnie częstsze występowanie homozygoty CC w grupie żyjących bez interwencji (41,7% vs 19,3%, $p=0,0280$). Nosicielstwo genotypu CC zmniejszało ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego 2,9- krotnie (HR=0,34, 95% CI [0,12-0,91], $p=0,0219$). Genotyp CT zwiększał ryzyko osiągnięcia złożonego punktu końcowego 2,54- krotnie (HR 2,54, [1,12-6,14], $p=0,0306$), natomiast nosicielstwo allelu T (CT+TT) powodowało 2,97- krotny wzrost ryzyka osiągnięcia złożonego punktu końcowego. Nie obserwowałam jednak podobnego wpływu na ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego w odniesieniu do genotypu TT. Trudno więc wnioskować o negatywnym wpływie allelu T, skoro nie zwiększał on ryzyka wystąpienia punktu końcowego jako homozygota. Wątpliwości natomiast nie budzi pozytywny w aspekcie ryzyka zgonu/AI wpływ nosicielstwa homozygoty CC.

Całkowicie odmienne od moich wyniki uzyskał Wieneke i wsp. [101], który badał wpływ polimorfizmu GNB3 na wystąpienie adekwatnej terapii ICD w grupie 82 pacjentów z niewydolnością serca w przebiegu choroby niedokrwiennej. Według cytowanego autora, to właśnie nosicielstwo homozygoty CC miało istotny wpływ na występowanie adekwatnych interwencji ICD. W wieloczynnikowej analizie proporcjonalnego hazardu Coxa genotyp CC zwiększał 3,9 –krotnie ryzyko adekwatnej terapii w porównaniu z CT i TT (95%CI 1,6-9,7, $p=0,004$), a pacjenci z tym genotypem mieli istotnie większą średnią częstość roczną wyładowań w porównaniu z pozostałymi ($0,6 \pm 1,47$ vs $0,09 \pm 0,44$; $p=0,001$). W swojej pracy nie analizowałam rocznej częstości wyładowań w odniesieniu do poszczególnych genotypów, odnotowywałam tylko wystąpienie pierwszej adekwatnej interwencji lub jej brak. Rozbieżność pomiędzy wynikami Wieneke i wsp. a moimi może także częściowo wynikać z różnic w badanych populacjach. Chociaż moja grupa była liczniejsza, to jednak była mniej

jednorodna. Wieneke włączył do swojego badania wyłącznie pacjentów z niewydolnością serca w przebiegu choroby niedokrwiennej.

Uzyskane przeze mnie wyniki są tylko częściowo spójne z wynikami innych badań, w których próbowano ocenić zależność pomiędzy powszechnie występującymi wariantami polimorficznymi genów ADRB1 i GNB3 a występowaniem komorowych zaburzeń rytmu wymagających interwencji ICD. Chociaż należy przypuszczać, że zmienność ta może mieć wpływ na ryzyko nagłego zgonu u chorych z niewydolnością serca, nie wskazano dotychczas jednoznacznie, które z wariantów mogą być za to odpowiedzialne.

Badania ostatnich dziesięcioleci potwierdziły przewagę wszczepialnego kardiowertera-defibrylatora nad zastosowaniem leków antyarytmicznych zarówno w pierwotnej jak i wtórnej profilaktyce nagłego zgonu [13,14,15,16]. Według aktualnych wytycznych ESC [17], wszczepienie kardiowertera-defibrylatora zaleca się u pacjentów z objawową niewydolnością serca w klasie NYHA II i III oraz $LVEF \leq 35\%$, mimo co najmniej 3 miesięcznej optymalnej farmakoterapii, u których oczekiwany czas przeżycia w dobrym stanie przekracza rok, w celu zmniejszenia ryzyka nagłego zgonu (IA).

W moim badaniu, spośród parametrów klinicznych i laboratoryjnych wyodrębniłam te, które w sposób znamieny wpływały na ryzyko wystąpienia adekwatnej terapii ICD w badanej grupie chorych. Należą do nich: obniżona LVEF, niskie stężenie cholesterolu całkowitego, a w nieco mniejszym stopniu również podwyższony poziom BNP.

Obniżona LVEF była silnym czynnikiem ryzyka wystąpienia VT/VF w wielu dotychczas przeprowadzonych badaniach, do których włączono pacjentów ze wszczepionym kardiowerterem-defibrylatorem [115,116]. Porównując grupę pacjentów, u których wystąpiła adekwatna interwencja z pozostałymi chorymi stwierdziłam istotną różnicę w średniej LVEF w obu podgrupach. Chorzy bez interwencji mieli znamienne wyższą średnią LVEF w porównaniu z grupą z AI ($27 \pm 10\%$ vs 22 ± 6 , $p = 0,0190$). Za pomocą analizy ROC wyznaczyłam wartość odcięcia dla LVEF najlepiej prognozującą wystąpienie adekwatnej interwencji urządzenia. $LVEF \leq 25\%$ prognozowała wystąpienie punktu końcowego z 56% czułością i 67% swoistością. Wyznaczone dla LVEF za pomocą modelu regresji Coxa ryzyko wystąpienia AI wynosiło 0,916 ($p=0,009$) w ujęciu jednoczynnikowym oraz 0,922 ($p=0,014$) w ujęciu wieloczynnikowym. Wzrost LVEF o 1% powodował 1,1-krotny spadek ryzyka wystąpienia adekwatnej interwencji ICD. Korzystając z wyznaczonej w analizie ROC wartości odcięcia dla LVEF ($\leq 25\%$), przy pomocy testu log-rank oraz krzywych Kaplana-Meiera określiłam prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji podczas 12-miesięcznego okresu obserwacji w obu analizowanych podgrupach. W podgrupie z $LVEF \leq 25\%$ było ono znamienne niższe w porównaniu z grupą w

której LVEF>25% (76,1 vs 89,1%; p=0,0215). Otrzymane przeze mnie wyniki są zgodne z wynikami wielu doniesień oceniających wartość LVEF w przewidywaniu ryzyka wystąpienia adekwatnej terapii ICD u pacjentów niewydolnością serca [13,14,15].

Kolejnym badaniem przeze mnie parametrem jest stężenie BNP. Podwyższone stężenie BNP jest nie tylko uznanym predyktorem śmiertelności w populacji pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca [48,117], ale może też być przydatne w przewidywaniu ryzyka nagłego zgonu [49,118]. Wytyczne ESC z 2012 roku precyzują wartości progowe BNP dla wykluczenia/rozpoznania niewydolności serca w zależności od tempa narastania objawów[17]. Nie podają jednak wartości powyżej której ryzyko zdarzeń sercowo naczyniowych, w tym nagłego zgonu, istotnie wzrasta. W moim badaniu analizowałam zależność pomiędzy stężeniem BNP a ryzykiem wystąpienia adekwatnej interwencji ICD. Stężenie BNP było istotnie wyższe w podgrupie pacjentów, którzy doświadczyli adekwatnej terapii urządzenia. Za pomocą analizy ROC ustaliłam, iż stężenie BNP $\geq 569,9$ pg/ml jest wartością odcięcia, która najlepiej (z 67% czułością i 63% swoistością) prognozuje wystąpienie analizowanego punktu końcowego. W teście log-rank oraz za pomocą krzywych Kaplana –Meiera oszacowałam prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji w ciągu 12 miesięcy w 2 grupach chorych, które wyodrębniłam korzystając z wyznaczonej w analizie ROC wartości odcięcia dla BNP. Prawdopodobieństwo to wynosiło 69,7% w podgrupie z BNP $\geq 569,9$ pg/ml, natomiast w grupie chorych, u których stężenie BNP było $< 569,9$ pg/ml oszacowałam je na 88,9% (p=0,0102). Mimo że, w przeprowadzonej przeze mnie analizie za pomocą modelu regresji Coxa BNP było istotnym czynnikiem ryzyka, to biorąc pod uwagę wyliczoną wartość ryzyka względnego HR= 1,001, miało ono w analizowanej przeze mnie grupie znaczenie obojętne w ocenie ryzyka wystąpienia adekwatnej interwencji. Bardziej spektakularny wpływ BNP na ryzyko wystąpienia adekwatnej interwencji ICD wykazali Verma i wsp. [50]. Włączyli oni do badania 345 pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca, którzy byli poddani pierwszej procedurze wszczepienia ICD. Próbkę krwi w celu oznaczenia stężenia BNP pobierane były, podobnie jak w moim badaniu w przeddzień zabiegu. Podczas średnio 13-miesięcznego okresu obserwacji zbierano dane z pamięci wszczepionych urządzeń odnotowując adekwatne interwencje (wyładowania wysokoenergetyczne oraz stymulację ATP). W jednoczynnikowym modelu regresji Coxa parametrami mającymi istotny wpływ na ryzyko adekwatnej interwencji były: LVEF, stężenie BNP oraz nie przyjmowanie amiodaronu, a w analizie wieloczynnikowej tylko stężenie BNP było znamienym predyktorem AI, zwiększało ono ryzyko AI 2,19-krotnie (HR 2,19, 95%CI [1,07-4,71], p=0,040). Grupa Vermy była jednak liczniejsza od mojej, bardziej zróżnicowana

pod względem stopnia zaawansowania niewydolności serca (NYHA I- IV). Autor włączył do badania również chorych z niewydolnością serca w przebiegu wad zastawkowych. Chorzy byli inaczej leczeni – tylko ok. 70% pacjentów otrzymywało beta-adrenolityki, a zaledwie 60% przyjmowało ACEI. W mojej grupie beta-adrenolityki otrzymywało 98% a ACEI 96% pacjentów. Wszystko to mogło wpłynąć na różnicę w otrzymanych wynikach. Podobną analizę przeprowadził Galante i wsp. w grupie 94 pacjentów z niewydolnością serca przyjętych w celu wszczepienia ICD [119]. Punktem końcowym w jego badaniu był nagły zgon i złośliwa arytmia komorowa, udokumentowana w pamięci wszczepionych urządzeń. Galante podzielił swoją grupę w zależności od stężenia BNP na kwartyle (<91, 91-159, 159-390, >390 pg/ml). Chorzy z 4 kwartyła, u których stężenie BNP wynosiło > 390 pg/ml znacząco częściej osiągnęli punkt końcowy w porównaniu z resztą badanych podczas rocznego okresu monitorowania. Z kolei żaden z pacjentów zakwalifikowanych do 1 kwartyła nie zmarł nagle i nie doświadczył złośliwej arytmii komorowej. Stężenie BNP > 390 pg/ml istotnie i niezależnie od innych czynników zwiększało 3,5- krotnie ryzyko wystąpienia punktu końcowego (HR 3,5,95% CI [1,2-10,2]). W mojej pracy nie udało się wykazać tak znaczącej wartości BNP w ocenie ryzyka wystąpienia AI, można jednak wskazać wiele różnic pomiędzy badaniem cytowanego autora a moim. W odróżnieniu ode mnie autor włączył do badania tylko chorych z niewydolnością serca w przebiegu choroby niedokrwiennej - badana populacja była zatem bardziej jednorodna od mojej. Chorzy byli starsi (średni wiek 70 lat vs 57 lat w mojej grupie). Grupa badana została podzielona na kwartyle, a rolę rokowniczą BNP wykazano dla chorych z 1 i 4 kwartyła (BNP< 91 pg/ml, BNP > 390 pg/ml). Odmienne były punkty końcowe – w mojej pracy była to adekwatna interwencja ICD, w pracy Galante i wsp. - nagły zgon i złośliwa arytmia komorowa w pamięci urządzenia. Autor nie precyzował czy były to tylko epizody, które skutkowały interwencją urządzenia, czy również te rejestrowane na monitorze, dla których nie programowano terapii i/ lub samoograniczające się. Można też zauważyć różnice w stosowanym leczeniu farmakologicznym pomiędzy grupą Galante a moją. W mojej grupie pacjenci w zdecydowanie większym odsetku byli leczeni beta-adrenolitykiem (98% vs 74%). Wartość rokowniczą BNP w przewidywaniu nagłego zgonu u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca potwierdziło też badanie Bergera i wsp. [49] oraz Tapanainen i wsp. [118]. W obu pracach parametr ten pozostawał silnym i niezależnym czynnikiem ryzyka nagłego zgonu. Uzyskane przeze mnie wyniki, choć sugerują pewną przydatność BNP w ocenie ryzyka AI, to jednak nie są tak spektakularne jak wyniki cytowanych autorów

W moim badaniu oceniałam również korelacje pomiędzy stężeniem BNP a pozostałymi zmiennymi, które okazały się przydatne w przewidywaniu ryzyka adekwatnej interwencji w analizowanej grupie chorych. Wykazałam istotną odwrotną korelację pomiędzy stężeniem BNP a LVEF ($r = -0,2454$, $p = 0,0094$). Spadek LVEF wiązał się ze wzrostem stężenia BNP, co pozostaje zgodne z wynikami innych autorów [120]. Nie zaobserwowałam korelacji między BNP a stężeniem cholesterolu, nie znalazłam też w piśmiennictwie żadnych prac oceniających tę zależność.

Hypercholesterolemia jest uznanym czynnikiem ryzyka wystąpienia choroby niedokrwiennej serca, wykazującym znamienne wpływy na śmiertelność w tej jednostce chorobowej oraz wiążącym się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju niewydolności serca [121]. Zastosowanie statyn redukuje ryzyko rozwoju niewydolności serca u pacjentów z chorobą niedokrwinną [122]. Jednakże w populacji pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca hypercholesterolemia nie wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zgonu, a badania ostatnich lat wskazują na to, iż wyższy poziom cholesterolu całkowitego, LDL, HDL i trójglicerydów poprawia rokowanie w tej grupie chorych, niezależnie od jej etiologii [123]. Takie zjawisko, opisywane również w odniesieniu do innych chorób w stanie schyłkowym (POCHP, niewydolność nerek) definiuje się jako zjawisko odwróconej epidemiologii, a związane jest ono prawdopodobnie z kacheksją i przewlekłym stanem zapalnym występującym u ciężko chorych pacjentów [124]. Co więcej, wieloośrodkowe, randomizowane badania kliniczne (CORONA, GISSI-HF) oceniające wpływ leczenia statynami na rokowanie w niewydolności serca wykazały, iż zastosowanie statyn nie poprawia istotnie rokowania, nie wpływa na śmiertelność i na liczbę zdarzeń wieńcowych w tej grupie chorych [125,126]. W obu badaniach liczba tych zdarzeń była niewielka, co sugeruje, że w populacji pacjentów z niewydolnością serca redukcja czynników ryzyka choroby niedokrwiennej może być już nieistotna [127,128]. W ostatniej dekadzie pojawiły się również doniesienia na temat wpływu statyn na występowanie komorowych zaburzeń rytmu i nagłego zgonu u chorych z niewydolnością serca [129,130]. Nie opisywano jednak w piśmiennictwie zależności pomiędzy niskim stężeniem cholesterolu a występowaniem komorowych zaburzeń rytmu w przewlekłej niewydolności serca.

W moim badaniu wykazałam, iż niskie stężenie cholesterolu całkowitego było u pacjentów z niewydolnością serca, podobnie jak LVEF, istotnym i niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia adekwatnych interwencji ICD. Porównując średnie stężenie cholesterolu całkowitego w dwóch podgrupach: grupie chorych, u których wystąpiła AI z pozostałymi stwierdziłam, iż chorzy z grupy AI mieli istotnie niższe jego średnie stężenie. Podobnej

zależności nie zaobserwowałam w odniesieniu do frakcji LDL i HDL. Za pomocą analizy ROC wyznaczyłam wartość stężenia cholesterolu całkowitego najlepiej prognozującą wystąpienie adekwatnej interwencji ICD, wynosiła ona $\leq 4,28$ mmol/l. Spośród wszystkich parametrów ocenianych w analizie ROC stężenia cholesterolu całkowitego charakteryzowało się największą czułością (68%) i swoistością (70%) w prognozowaniu adekwatnych interwencji. Bazując na wynikach powyższej analizy podzieliłam grupę badaną na dwie podgrupy, wykreślając krzywe przeżycia Kaplana-Meiera obrazujące prawdopodobieństwo braku adekwatnej interwencji podczas 12 miesięcznego okresu obserwacji. Prawdopodobieństwo to wynosiło 66,3% w grupie pacjentów z Tchol $\leq 4,28$ mmol/l, a w grupie z Tchol $> 4,28$ mmol/l 90,1% ($p=0,0015$). W analizie opartej na modelu regresji logistycznej Coxa wykazałam istotną wartość Tchol w ocenie ryzyka, zarówno w ujęciu jedno- jak i wieloczynnikowym. Wzrost stężenia cholesterolu całkowitego o 1 mmol/l powodował 1,6- krotne zmniejszenie ryzyka wystąpienia AI ($H = 0,625$; 95% CI [0,4-1,0], $p=0,033$). Stężenie cholesterolu całkowitego okazało się być, obok LVEF, istotnym, niezależnym czynnikiem predykcyjnym wystąpienia adekwatnej terapii ICD w badanej grupie chorych.

Nie publikowano dotychczas żadnych prac badających zależność pomiędzy stężeniem poszczególnych parametrów gospodarki lipidowej a ryzykiem komorowych zaburzeń rytmu u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca. Opisywany jest jednak w literaturze światowej „paradoks cholesterolu” w migotaniu przedsionków. Wantanabe i wsp. wykazali na dużej, bo aż 28,449 grupie pacjentów, że niskie stężenie cholesterolu HDL u kobiet istotnie predysponuje do wystąpienia migotania przedsionków [131]. Podobną odwrotną korelację autor opisał w odniesieniu do LDL i cholesterolu całkowitego, co potwierdzili inni badacze [132,133]. Nie udało się do końca wyjaśnić mechanizmu tego zjawiska. Niektórzy badacze twierdzą, iż jest ono związane z wiekiem i płcią – stężenie cholesterolu jest relatywnie wyższe u młodych pacjentów, a w starszej grupie > 70 roku życia u wielu pacjentów wykazuje tendencję zniżkową. W tej grupie AF jest stwierdzane znacznie częściej. Niektórzy postulowali, iż paradoks ten może być związany z płcią, co jednak wykluczył Wantanabe – w jego badaniu niskie stężenie cholesterolu LDL było niezależnym od wieku i płci czynnikiem ryzyka AF. Inna z teorii próbuje łączyć ten paradoks z zaburzeniami funkcji tarczycy, istnieje bowiem odwrotna korelacja pomiędzy stężeniem LDL i Tchol w stężeniem hormonów tarczycy. W badaniach na małych grupach pacjentów nie potwierdzono tej teorii [132], jednak nie badano tej zależności na dużych grupach chorych. Wreszcie rozpatrywano też teorię przewlekłego stanu zapalnego. Skoro mówi się o paradoksie cholesterolu w migotaniu przedsionków, nie można wykluczyć, że istnieje również

odwrotna korelacja pomiędzy niskim stężeniem cholesterolu a zwiększonym ryzykiem arytmii komorowej. W swojej pracy zaobserwowałam istotny i niezależny od innych badanych czynników wpływ niskiego stężenia cholesterolu na ryzyko adekwatnej interwencji ICD. Zależność tę wykazałam tylko dla cholesterolu całkowitego, nie stwierdziłam jej w odniesieniu do frakcji LDL i HDL. Zjawisko to wydaje się być niezależne od wieku, płci (grupa chorych u których wystąpiła AI i w której stwierdzono istotnie niższe stężenie Tchol była porównywalna do grupy bez interwencji pod względem tych parametrów). Nie stwierdziłam jakiegokolwiek korelacji pomiędzy stężeniem cholesterolu a LVEF, która również była predyktorem wystąpienia adekwatnej interwencji w badanej grupie chorych.

Wiele doniesień wskazuje na rolę statyn w redukcji ryzyka komorowych zaburzeń rytmu u pacjentów z niewydolnością serca. Otrzymane przeze mnie wyniki nie ujawniły jednak różnic w odsetku pacjentów przyjmujących statyny pomiędzy grupą bez AI (76%) a chorymi, u których adekwatne interwencje miały miejsce (77,8%, $p=0,8493$). Należy jednak zauważyć, że w swoim badaniu nie analizowałam dawek przyjmowanych leków. Niezależną rolę Tchol w prognozowaniu adekwatnych interwencji potwierdziłam również w analizie regresji logistycznej Coxa. Cholesterol całkowity pozostawał istotnym czynnikiem wpływającym na ryzyko interwencji nie tylko w ujęciu jedno-, ale również wieloczynnikowym. Nie można wykluczyć, że na zaobserwowane przeze mnie zjawisko miały wpływ inne czynniki, takie jak chociażby zaburzenia funkcji tarczycy. Jak powszechnie wiadomo, stężenie hormonów tarczycy koreluje odwrotnie ze stężeniem cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL [131], a predysponuje do występowania zarówno nadkomorowych jak i komorowych zaburzeń rytmu. Zebrane przeze mnie dane nie pozwalają na zweryfikowanie tego związku, gdyż nie badałam stężenia TSH i wolnych hormonów tarczycy u pacjentów włączonych do badania. Na podstawie braku istotnej różnicy w odsetku pacjentów przyjmujących amiodaron pomiędzy grupą AI (21%) a resztą chorych (20%), z dużym prawdopodobieństwem można wykluczyć udział zaburzeń funkcji tarczycy, będących efektem przyjmowania tego leku. Badania nad wpływem statyn na występowanie komorowych zaburzeń rytmu u pacjentów z niewydolnością serca w zdecydowanej większości pokazują ich pozytywne działanie w aspekcie arytmogenezy, szczególnie w odniesieniu do chorych z chorobą niedokrwienną. Sutter i wsp. [134] badając 78 pacjentów z chorobą niedokrwienną serca i wszczepionym ICD wykazali, iż pacjenci przyjmujący statyny mieli istotnie mniejsze ryzyko zgonu adekwatnej interwencji (22%, vs 57%, $p=0,0004$) oraz wystąpienia złożonego punktu końcowego jakim był zgon i hospitalizacja (15% vs 45%, $p=0,015$). Nieco odmiennie wyniki uzyskali Coleman i wsp [135]. Badali oni grupę

1204 pacjentów z niewydolnością serca w przebiegu choroby niedokrwiennej i kardiomiopatii nie- niedokrwiennej, ze wszczepionym ICD. Przyjmowanie statyny zmniejszyło w tej grupie ryzyko zgonu (HR=0,67, 95%CI [0,53-0,85]; $p < 0,001$), ale nie było związane z redukcją ryzyka wystąpienia VT/VF (HR=0,85; 95%CI [0,68-1,06], $p=0,14$). Z kolei Beri i wsp [136] na podstawie analizy publikowanych w Medline doniesień dotyczących wpływu stosowania statyn na redukcję zdarzeń arytmicznych stwierdzili, iż w aspekcie ryzyka nawrotu VT/VF leki te wykazywały pozytywny, zmniejszający to ryzyko efekt tylko u chorych z chorobą niedokrwinną, co sugeruje raczej przeciwniedokrwienno niż przeciwarytmiczny mechanizm ich działania w redukcji ryzyka nagłego zgonu. W moim badaniu statyny nie miały istotnego wpływu na występowanie zdarzeń arytmicznych.

Wyniki moich badań wskazują na to, iż obniżone stężenie cholesterolu całkowitego może być istotnym czynnikiem ryzyka wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu/ adekwatnej interwencji ICD u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca. Jednak w literaturze nie znalazłam doniesień, które weryfikowałyby tę zależność, a badana przeze mnie grupa była stosunkowo niewielka. Istnieje zatem konieczność zweryfikowania tej zależności na większej grupie chorych. Potrzebne są również kolejne badania, które mogłyby wyjaśnić mechanizm tej zależności.

Migotanie przedsionków jest najczęstszą arytmia w populacji pacjentów z niewydolnością serca. Dodatkowym ciekawym wynikiem jest stwierdzenie, iż występowało ono rzadziej u chorych, którzy doświadczyli adekwatnej interwencji, podczas gdy inni autorzy podają, że sprzyja ono interwencjom ICD, zarówno adekwatnym, jak i nieadekwatnym [137,138]. Dotyczy to jednak wszystkich rodzajów tej arytmii, a nie jak w moim badaniu formy utrwalonej. W mojej pracy obecność utrwalonego migotania przedsionków nie zwiększała ryzyka wystąpienia adekwatnej terapii ICD, wręcz przeciwnie- w grupie bez AI odsetek chorych z utrwalonym migotaniem przedsionków był istotnie większy 20% vs 4% , $p= 0,0082$. Z kolei u pacjentów z utrwalonym migotaniem przedsionków istotnie częściej w porównaniu z grupą z rytmem zatokowym występowały interwencje nieadekwatne spowodowane migotaniem lub trzepotaniem przedsionków z szybkim rytmem komór (33%, vs 9,3%, $p= 0,006$). Otrzymane przeze mnie wyniki nie są do końca zbieżne z innymi doniesieniami, w których próbowano przeanalizować zależność pomiędzy występowaniem migotaniem przedsionków a adekwatną terapią ICD. Jednak w wielu z tych doniesień podkreślano, że występowanie AF nie musi być czynnikiem pogarszającym rokowanie w niewydolności serca, a może jedynie odzwierciedlać stopień

zaawansowania choroby [139]. W dobie wciąż doskonalszego, opartego na wynikach wielośrodkowych badań leczenia farmakologicznego, potencjalny niekorzystny wpływ AF na występowanie komorowych zaburzeń rytmu może mieć mniejsze znaczenie. Niezmiernie ważną kwestią pozostaje umiejętna kontrola częstości rytmu serca w migotaniu przedsionków, co może zmniejszyć liczbę wyładowań nieadekwatnych i poprawić rokowanie w tej grupie chorych.

Wzmoczona aktywacja układu RAA to podstawowy mechanizm patofizjologiczny odpowiedzialny za progresję niewydolności serca. Nagły zgon sercowy u pacjentów z niewydolnością serca jest efektem wielu, często współistniejących czynników, takich jak włóknienie miokardium, nieprawidłowa aktywacja neurohormonalna, dysfunkcja skurczowa lewej komory a także często występujące zaburzenia elektrolitowe. Wtórny hyperaldosteronizm może zatem być odpowiedzialny za wiele z tych czynników, zwiększając ryzyko wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu [140]. Antagoniści receptora mineralokortykoidowego (MRA), zmniejszając stężenie aldosteronu istotnie poprawiają rokowanie u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca, zmniejszając również ryzyko wystąpienia nagłego zgonu, co wykazano w badaniu RALES i EPHEBUS [54,141]. W badaniu RALES dodanie spironolaktonu do standardowej terapii niewydolności serca zmniejszyło ryzyko nagłego zgonu o około 29%, a śmiertelność całkowitą o 30%. Zastosowanie eplerenonu w dawce 25-50 mg redukowało ryzyko wystąpienia nagłego zgonu o 21%. W moim badaniu pacjenci, którzy doświadczyli adekwatnej interwencji ICD w istotnie mniejszym odsetku leczenia byli MRA (80% vs 96%, $p=0,0082$), co mogło wpłynąć na zwiększone ryzyko wystąpienia komorowych zaburzeń rytmu i adekwatnej interwencji ICD. Mechanizm działania „antyarytmicznego” MRA, jak sugerują niektóre z doniesień, jest złożony i może wynikać ze zmniejszenia włóknienia w efekcie działania tych leków, zmniejszenie ryzyka wystąpienia hypokaliemii, która jest znanym czynnikiem predysponującym do arytmii komorowej, a także bezpośredniego wpływu na właściwości elektrofizjologiczne komórek mięśnia sercowego [142].

Podsumowując, wydaje się, że polimorfizmy badanych genów nie są dobrymi wskaźnikami występowania arytmii komorowych u chorych z niewydolnością serca ze zmniejszoną LVEF. Ich przydatność w określaniu rokowania w niewydolności serca wymaga dalszych badań. Obniżona LVEF jest uznanym czynnikiem ryzyka w niewydolności serca i pozostaje głównym wskazaniem do wszczęcia ICD w profilaktyce pierwotnej nagłego zgonu, co znalazło potwierdzenie w moich badaniach. Mimo, że podwyższone stężenia BNP są uznanym czynnikiem ryzyka w niewydolności serca, to w badaniach własnych nie wykazałam,

by były szczególnie przydatne w wykrywaniu predyspozycji do występowania złośliwej arytmii komorowej u chorych z niewydolnością serca i wszczepionym ICD. Dalszych badań wymaga stwierdzony przeze mnie związek pomiędzy występowaniem adekwatnych interwencji ICD i zmniejszonym stężeniem cholesterolu całkowitego.

Otrzymane przeze mnie wyniki są tylko częściowo zbieżne z wynikami badań dostępnymi w piśmiennictwie. W dobie poszukiwania nowych, dodatkowych wskaźników zwiększonego ryzyka nagłego zgonu, w związku z potrzebą udoskonalenia kwalifikacji do wszczepienia ICD oraz określenia trybu jego wszczepienia, duże nadzieje budzą badania genetyczne. Jednak na razie wyniki nielicznych jeszcze prac pozostają wciąż niespójne, często wręcz sprzeczne. Najprawdopodobniej upłynie jeszcze dużo czasu zanim określimy jednoznacznie przydatność tych badań. Żaden ze znanych klinicznych i laboratoryjnych czynników predysponujących do wystąpienia nagłego zgonu u chorych z niewydolnością serca nie spełnił również oczekiwań lekarzy kwalifikujących pacjentów do implantacji ICD. Obniżona LVEF pozostaje głównym wskazaniem do wszczepienia tego urządzenia w profilaktyce pierwotnej nagłego zgonu. Liczba chorych z ICD rośnie, koszty terapii są duże i wiąże się ona z występowaniem istotnych powikłań. Wśród pacjentów, którym implantowano ICD w prewencji pierwotnej nagłego zgonu tylko 20-30% doznaje adekwatnej interwencji w okresie 4- 5 lat po implantacji. Badania nad identyfikacją nowych markerów wysokiego ryzyka nagłego zgonu wciąż trwają. Ze względu na złożoną patogenezę niewydolności serca i związanych z jej rozwojem zaburzeń rytmu serca nie będzie to łatwym zadaniem.

6. WNIOSKI

1. Polimorfizm C825T genu GNB3 nie wpływa na ryzyko wystąpienia niewydolności serca. Genotyp CC polimorfizmu Gly389Arg genu ADRB1 zwiększa predyspozycję do jej wystąpienia.
2. Analizowane polimorfizmy genów ADRB1 i GNB3 nie wpływają na ryzyko wystąpienia adekwatnych interwencji ICD w badanej grupie chorych.
3. Nosicielstwo homozygoty CC polimorfizmu C825T genu GNB3 jest związane z lepszym rokowaniem w badanej grupie pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca.
4. Ryzyko wystąpienia adekwatnej interwencji ICD jest istotnie zwiększone u pacjentów z LVEF $\leq 25\%$ lub niskim stężeniem cholesterolu całkowitego.

STRESZCZENIE

Wstęp. Nagły zgon sercowy (SCD) pozostaje jednym z najczęstszych mechanizmów zgonów w populacji pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca. Uznany sposobem zapobiegania SCD w tej grupie chorych jest implantacja kardiowertera- defibrylatora (ICD). Liczba chorych, którym wszczepia się ICD oraz tych, którzy wg aktualnych wytycznych kwalifikują się do implantacji tego urządzenia systematycznie wzrasta. Jednak ze względu na koszt takiego leczenia, związane z nim powikłania oraz fakt, iż wielu z nich nigdy nie doświadczy adekwatnej interwencji, konieczne jest poszukiwanie nowych, nieinwazyjnych wskaźników identyfikujących pacjentów najwyższego ryzyka. Badania ostatnich lat pokazują, że podłoże genetyczne może predysponować do wystąpienia niewydolności serca, wpływać na jej przebieg i wyniki leczenia. Określenie, które warianty genów związane są z większym ryzykiem wystąpienia arytmii komorowej u chorych z przewlekłą niewydolnością serca może przyczynić się do lepszego wykorzystania drogich sposobów leczenia, pozwalając na szybkie wyodrębnienie podgrup największego ryzyka. W nielicznych publikacjach wskazuje się na możliwość wpływu polimorfizmów Gly389Arg genu receptora β 1-adrenergicznego (**Gly389Arg ADRB1**) oraz C825T genu podjednostki beta-3 białka G (**C825T GNB-3**) na ryzyko wystąpienia złośliwej arytmii komorowej i nagłego zgonu u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca. Wyniki tych doniesień są jednak niespójne.

Celem pracy jest ocena związku polimorfizmów Gly389Arg ADRB1 oraz C825T GNB3 z predyspozycją do wystąpienia niewydolności serca oraz z występowaniem adekwatnych interwencji ICD a także ich przydatności w określeniu rokowania u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca. Dodatkowym celem jest ocena zależności pomiędzy niektórymi z parametrów klinicznych i laboratoryjnych a ryzykiem wystąpienia adekwatnej interwencji w badanej grupie chorych.

Material i metodyka. Grupę badaną stanowiło 115 pacjentów w tym 95 mężczyzn i 20 kobiet, w wieku od 26 do 83 lat (średnio 57 ± 11) z rozpoznaną przewlekłą niewydolnością serca w przebiegu dysfunkcji skurczowej lewej komory ($LVEF \leq 45\%$, NYHA \geq II), hospitalizowanych w I Klinice Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w celu wszczepienia kardiowertera- defibrylatora (ICD) (84 pacjentów- 73%) lub stymulatora resynchronizującego z funkcją defibrylacji (CRT-D) (31 pacjentów- 27%). U pacjentów oceniano LVEF, 12- odprowadzeniowe spoczynkowe badanie elektrokardiograficzne (rytm wiodący, zaburzenia przewodnictwa śródkomorowego, ze szczególnym uwzględnieniem LBBB,

szerokość zespołu QRS) oraz podstawowe parametry laboratoryjne, takie jak: morfologia krwi obwodowej, stężenia BNP, CRP, elektrolitów, kreatyniny, glukozy, bilirubiny, kwasu moczowego, cholesterolu całkowitego i jego frakcji, trójglicerydów oraz aktywność AST, ALT. Dodatkowo u 84 chorych przeprowadzono badanie spiroergometryczne. U każdego chorego wykonano badanie genetyczne w celu identyfikacji wariantów polimorficznych badanych genów: Gly389Arg ADRB1 oraz C825T GNB3.

Podczas okresu monitorowania, którego mediana wynosiła 364 dni (zakres od 9 do 671 dni), analizowano i odnotowywano epizody arytmii komorowej i związane z nimi adekwatne interwencje ICD, w tym stymulację antytachyarytmiczną (ATP- antytachycardia pacing) oraz interwencje wysokoenergetyczne. Za pomocą ankiety telefonicznej zbierano informacje o zgonach z przyczyn sercowo naczyniowych.

Wyniki. Częstość genotypów CC= 59,6% , GC= 34,2%, GG=6,2% genu ADRB1 oraz CC=35,6% , CT= 51,4% i TT= 13% w badanej grupie była zgodna z przewidywaną według prawa Hardy'ego- Weinberga. Częstość występowania genotypu CC ADRB1 w grupie badanej była istotnie większa w porównaniu z grupą kontrolną 59,6% vs 44,8%, $p=0,0298$. Nosicielstwo genotypu CC ADRB1 zwiększało 1,33- krotnie ryzyko zachorowania na niewydolność serca z obniżoną LVEF (HR=1,33; 95% CI[1,12–1,74]; $p=0,006$). Grupa badana i kontrolna nie różniły się istotnie pod względem częstości występowania genotypów GNB3.

Podczas obserwacji odległej zmarło 10 pacjentów (w tym 8 z powodu postępującej niewydolności serca). Adekwatne interwencje wystąpiły u 25 chorych, co stanowiło 21,5% badanej grupy. Złożony punkt końcowy (adekwatna interwencja ICD/ zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych) wystąpił u 31 pacjentów (26,5%). Nie stwierdzono istotnych różnic w częstości występowania genotypów ADRB1 oraz GNB3 w zależności od wystąpienia lub braku adekwatnej interwencji. Wykazano natomiast, iż nosicielstwo genotypu CC GNB3 zmniejsza ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego 2,9- krotnie , HR=0,34 (95% CI [0,12-0,91]; $p=0,0219$). Prawdopodobieństwo przeżycia bez adekwatnej interwencji podczas 12-miesięcznego okresu obserwacji było znamienne dłuższe u nosicieli tego genotypu w porównaniu z genotypami CT i TT, i wynosiło 83 vs 74%, $p=0,0301$.

Analizując parametry kliniczne i laboratoryjne badanej grupy stwierdzono, iż chorzy, którzy doświadczyli adekwatnej interwencji, mieli znamienne niższą LVEF ($22 \pm 6\%$ vs $27 \pm 10\%$, $p=0,0190$) oraz istotnie wyższe stężenie BNP ($763,6 [6,4 - 2834,0]$ pg/ml vs $418 [18,5 - 3848,0]$ pg/ml; $p=0,0447$) a także znamienne niższe stężenie cholesterolu całkowitego ($4,2 \pm 0,8$ mmol/l vs $4,8 \pm 1,2$ mmol/l, $p=0,0203$).

Przy pomocy jednoczynnikowego modelu regresji Coxa wyznaczono ryzyko względne (HR) wystąpienia adekwatnej interwencji ICD. Wśród badanych parametrów istotny wpływ na to ryzyko miały LVEF oraz stężenie cholesterolu całkowitego. Wzrost LVEF o 1 % zmniejszał ryzyko wystąpienia adekwatnej interwencji ICD 1,1- krotnie (HR= 0,916; 95% CI [0,84-0,97]; p= 0,009) natomiast wzrost stężenia cholesterolu całkowitego o 1 mmol/l powodował 1,6- krotne zmniejszenie tego ryzyka (HR= 0,614; 95% CI [0,38-0,94]; p=0,028). Biorąc pod uwagę wyliczoną dla BNP wartość ryzyka względnego (HR= 1,0; 95% CI [1,0-8,1]; p=0,002) należy podkreślić, iż w tej analizie BNP miało znaczenie obojętne w prognozowaniu ryzyka adekwatnej interwencji. W analizie wieloczynnikowej potwierdzono znamienne znaczenie LVEF (HR= 0,922; 95% CI [0,8-1,0], p= 0,014) oraz stężenia cholesterolu całkowitego (HR= 0,625; 95% CI [0,4-1,0]; p= 0,033) w prognozowaniu ryzyka adekwatnej interwencji ICD.

Korzystając z analizy ROC wyznaczono dla wybranych parametrów wartości odcięcia, które najlepiej prognozowały wystąpienie adekwatnej interwencji ICD. Wartości te wynosiły odpowiednio: dla LVEF $\leq 25\%$ (AUC= 0,67), dla BNP $\geq 569,9$ pg/ml (AUC= 0,63), dla cholesterolu całkowitego $\leq 4,28$ mmol/l (AUC= 0,63).

Za pomocą testu log- rank oraz krzywych Kaplana –Meiera wykazano istotny wzrost prawdopodobieństwa nie wystąpienia adekwatnej interwencji podczas rocznego okresu obserwacji wraz ze wzrostem LVEF, stężenia cholesterolu całkowitego oraz spadkiem stężenia BNP.

Wnioski. Na podstawie przeprowadzonego badania postawiłam następujące wnioski:

1. Polimorfizm C825T genu GNB3 nie wpływa na ryzyko wystąpienia niewydolności serca. Genotyp CC polimorfizmu Gly389Arg genu ADRB1 zwiększa predyspozycję do jej wystąpienia.
2. Analizowane polimorfizmy genów ADRB1 i GNB3 nie wpływają na ryzyko wystąpienia adekwatnych interwencji ICD w badanej grupie chorych.
3. Nosicielstwo homozygoty CC polimorfizmu C825T genu GNB3 jest związane z lepszym rokowaniem w badanej grupie pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca.
4. Ryzyko wystąpienia adekwatnej interwencji ICD jest istotnie zwiększone u pacjentów z LVEF $\leq 25\%$ lub niskim stężeniem cholesterolu całkowitego.

ABSTRACT

Background. Sudden cardiac death (SCD) remains one of the most frequent causes of mortality among patients with chronic heart failure. Implantable cardioverter-defibrillator (ICD) is an acknowledged method of SCD prevention. The number of patients eligible for ICD implantation is increasing. However, due to high expenses of such treatment, associated complications and the fact, that many of patients with ICD will never experience an adequate intervention, there is a necessity to search for new, non-invasive methods to identify those individuals, who are at highest risk of SCD. Recently published studies have demonstrated that genetic background may predispose to the heart failure as well as have an impact on its course and outcomes of treatment. Determination of genetic variations associated with high risk of ventricular arrhythmia in subjects with chronic heart failure may contribute to more precise application of such expensive therapy by means of efficient identification of the highest risk subgroups in this population. Few papers have demonstrated a possible impact of Gly389Arg beta1-adrenoceptor gene polymorphism (**Gly389Arg ADRB1**) as well as C825T polymorphism of the G-protein of beta-3 subunit gene (**C825T GNB3**) on the risk of ventricular arrhythmia and sudden death among patients with chronic heart failure. However, outcomes of these studies remain unclear.

The aim of the study was to assess the relationship between Gly389Arg ADRB1 and C825T GNB3 polymorphisms with the predisposition to heart failure and with the occurrence of adequate ICD intervention as well as their prognostic value with regard to the patients with chronic heart failure. Additional aim was to evaluate an interdependence between certain clinical or laboratory parameters and occurrence of adequate intervention in the study group.

Material and methods. The study group consisted of 115 patients (including 95 males), 26-83 years (mean 57 ± 11 years) with chronic heart failure due to systolic dysfunction of the left ventricle (LVEF $<45\%$, NYHA \geq II class), who were hospitalized in the 1st Department of Cardiology, University of Medical Sciences, Poznan in order to have implantable cardioverter-defibrillator (ICD) or cardiac resynchronization therapy device with defibrillating function (CRT-D) implanted. The patients were assessed with regard to LVEF, 12-lead electrocardiogram (dominant rhythm, intraventricular conduction disorders especially including LBBB, QRS width) as well as basic laboratory parameters including: full blood count, BNP concentration, CRP, electrolytes, creatinine, glucose, bilirubin, uric acid, total cholesterol and its fractions, triglycerides, ALT and AST activity. Additionally, 84 patients underwent a cardiopulmonary exercise test. Genetic analysis identifying polymorphic variants of investigated genes Gly389Arg

ADRB1 and C825T GNB was performed in every patient. During the follow-up period (median 364, min 9 – max 671 days) the episodes of ventricular arrhythmia and associated adequate ICD interventions including anty-tachycardia pacing (ATP) and high-energy shocks were registered. Information on cardiovascular deaths was gathered from the family members using dedicated questionnaire via phone call.

Results. Frequencies of the genotypes CC= 59,6% , GC= 34,2%, GG=6,2% of ADRB1 gene as well as CC=35,6%, CT= 51,4% i TT= 13% were congruent with the ones predicted according to the Hardy-Weinberg principle. Frequency of the genotype CC ADRB1 in the study group was significantly higher when compared to the controls: 59,6% vs 44,8%, $p= 0,0298$. The risk of heart failure with reduced LVEF was 1,33-fold increased among the carriers of CC ADRB1 genotype (HR=1,33; 95% CI[1,12–1,74]; $p= 0,006$). The study and control groups did not differ significantly with regard to the frequencies of GNB3 genotypes.

During the follow-up 10 patients died (including 8 due to the heart failure progression). Adequate interventions were registered in 25 subjects, accounting for 21,5% of the whole study group. The composite endpoint (adequate ICD shock/death due to cardiovascular cause) occurred in 31 patients (26,5%). No significant differences in the frequencies of ADRB1 and GNB3 genotypes were found with regard to the presence or lack of adequate ICD intervention. Nevertheless, it was shown that the carrier-state of CC GNB3 genotype decreased the risk of composite endpoint by 2,9 (HR=0,34; 95% CI:[0,12-0,91]; $p=0,0219$). The probability to survive without the adequate ICD shock during 12-month follow-up was significantly higher in this genotype carriers compared to those with CT and TT genotypes (83% vs 74%, $p=0,0301$). The analysis of clinical and laboratory parameters demonstrated that patients who experienced the adequate interventions had significantly lower LVEF ($22 \pm 6\%$ vs $27 \pm 10\%$, $p= 0,0190$), higher BNP concentration (763,6 [6,4 – 2834,0] pg/ml vs 418 [18,5 – 3848,0]) as well as lower total cholesterol level ($4,2 \pm 0,8$ mmol/l vs $4,8 \pm 1,2$ mmol/l, $p= 0,0203$). On univariate Cox regression model the hazard ratio (HR) of the adequate ICD shock was calculated. Among the investigated parameters LVEF and total cholesterol level were found to be the most powerful factors influencing this risk. A 1% increase in LVEF reduced the risk of the adequate therapy by 1,1-fold (HR= 0,916; 95% CI [0,84-0,97]; $p= 0,009$), whereas the rise in total cholesterol level by 1 mmol/l caused a 1,6-fold reduction of this risk (HR= 0,614; 95% CI [0,38-0,94]; $p=0,028$). Considering the hazard ratio calculated for BNP (HR= 1,0; 95% CI [1,0-8,1]; $p=0,002$) it is worth emphasizing that the study revealed a neutral prognostic value of BNP with regard to the risk of adequate ICD intervention. Multivariate analysis confirmed a significant role of LVEF

(HR= 0,922; 95% CI [0,8-1,0], p= 0,014) and total cholesterol level (HR= 0,625; 95% CI [0,4-1,0]; p= 0,033) in the prognosis of the adequate shocks occurrence.

The chosen parameters were entered into ROC curve analysis to determine the cutoff values for the most precise prognosis of adequate ICD shocks incidence. These values were calculated as: LVEF \leq 25% (AUC= 0,67), BNP \geq 569,9 pg/ml (AUC= 0,63), total cholesterol \leq 4,28 mmol/l (AUC= 0,63).

By defining Kaplan-Meier Estimate and with the use of log-rank test, it has been confirmed that the probability of the lack of adequate ICD therapy during one-year follow-up has demonstrated to significantly increase along with the rise of LVEF and total cholesterol level as well as with the drop in BNP concentration.

Conclusions. On the basis of the conducted study the following conclusions were drawn:

1. The GNB3 C825T polymorphism has no impact on incidence of heart failure. The CC genotype of Gly389Arg polymorphism of ADRB1 gene predisposes to its occurrence.

2. Analised ADRB1 and GNB3 polymorphisms have no impact on the risk of adequate ICD interventions in the study group.

3. In study group patients with chronic heart failure the carrier-state of CC GNB3 homozygote is related to better prognosis.

4. The risk of adequate ICD intervention is significantly higher in subjects with LVEF \leq 25% or low total cholesterol level.

8. PIŚMIENICTWO

1. Karasek D, Kubica A, Sinkiewicz W, et al. Epidemia niewydolności serca – problem zdrowotny i społeczny starzejących się społeczeństw Polski i Europy. *Folia Cardiologica Excerpta* 2008, tom 3, nr 5, 242- 248.
2. Ho KK, Pinsky JL, Kannel WB, Levy D. The epidemiology of heart failure : The Framingham Study. *J. Am Coll Cardiol.* 1993; 22: 6A- 13A.
3. Korewicki J, Rywik S, Rywik T. Management of heart failure patients in Poland. *Eur J Heart Fail.* 2002; 4: 215- 219.
4. Rywik SL, Wagrowska H, Broda G, et al. Heart failure in patients seeking medical help at outpatients clinics. Part I: General characteristic. *Eur J Heart Fail.* 2000; 2: 413-421.
5. Clelend J.G, Swedberg K, Follath F, et al. The Euro Heart Failure survey programme- a survey on the quality of care among patients with heart failure in Europe. Part 1: patient characteristics and diagnosis. *Eur. Heart J.* 2003; 24: 442-462.
6. Stewart S, MacIntyre K, Hole DJ, et al. More “malignant” than cancer? Five-year survival following a first admission for heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2001; 3: 315-322.
7. Cowie MR, Wood DA, Coats AJ, et al. Survival of patients with a new diagnosis of heart failure: A population based study. *Heart* 2002; 83: 505-510.
8. Korewicki J, Leszek P, Kopacz M. Epidemiologia i aktualny stan w zakresie postępowania w niewydolności serca. W: Dubiel J, Korewicki J, Grodzicki T, red. *Niewydolność serca.* Gdańsk: Via Medica 2004. p.2-18
9. MERIT-HF Study Group. Effect of Metoprolol CR, XR in chronic heart failure. Metoprolol CR/XL randomized intervention trial in congestive heart failure. *MERIT HF. Lancet* 1999; 353: 2001-7.
10. Szczeklik A, Tendera M. *Kardiologia. Medycyna Praktyczna,* Kraków 2009.
11. Zipes DP, CammAJ, Borggrefe M, et al.. ACC/AHA/ ESC 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association. Task Force and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines developed with collaboration with the European Heart Rhythm Association and Heart Rhythm Society. *Circulation* 2006; 114:e 385-484
12. Josephson M. Waldens HJ. Implantable defibrillators and sudden cardiac death. *Circulation* 2004; 109: (22): 2685- 2691.

13. Moss AJ, Hall J, Cannom DS., et al. Improved survival with an implanted defibrillator in patients with coronary disease at high risk of ventricular arrhythmia. *N Eng J Med.* 1996; 26: 1933-1939.
14. Buxton AE, Lee KL, Fisher JD et al. A randomized study of the prevention of sudden death in patients with coronary artery disease. Multicenter Unsustained Tachycardia Trial Investigators. *N Eng J Med.* 1999; 341: 1882-1890.
15. Moss AJ, Zareba W, Hall WJ et al. Prophylactic implantation of a defibrillator in patients with myocardial infarction and reduced ejection fraction . *N Eng J Med.* 2002; 346: 877-883.
16. Bardy GH, Lee KL, Mark DB, et al. Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure. *N Eng J Med.* 2005; 352: 225-237.
17. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail.* 2012 ; 14(8): 803-69.
18. Eucomed. http://www.eucomed.org/medical-technology_figures/110518_statistics_for_cardiac_rhythm_management_products20052010_PDF.
19. Wolpert C, Kuschyk J, Aramin N, et al. Incidence and electrophysiological characteristic of spontaneous ventricular tachyarrhythmias in high risk coronary patients and prophylactic implantation of defibrillator. *Heart* 2004; 90: 667-671.
20. De Vreede- Swademakers JJ, Gorgels AP, Dubois- Arbouw WI, et al. Out-of-hospital cardiac arrest in the 1990's: a population-based study in the Maastricht area on incidence, characteristics and survival. *J Am Col Cardiol* 1997; 30(6): 1500-5.
21. Stecker EC, Vickers C, Wal;tz J, et al. Population based analysis of sudden cardiac death with an without left ventricle systolic dysfunction: two year findings from an Oregon Sudden Unexpected Death Study. *J Am Col Cardiol* 2006: 47(6): 1161-6.
22. Poole J.E., Johnson G.W, Hellkamp AS, et al. Prognostic importance of defibrillator shock in patients with heart failure. *N Eng J Med.* 2008; 359: 1009-1017.
23. Dubert JP, ZarebaW, Cannom DS, et al. Inappropriate implantable cardioverter-defibrillator shocks in MADIT II: frequency, mechanisms, predictors and survival impact. *J Am Col Cardiol.* 2008; 51: 1357-65.

24. Saxon LA, Hayes DL, Gilliam FR, et al. Long-term outcome after ICD and CRT implantation and influence of remote device follow-up: the ALTITUDE survival study. *Circulation*. 2010; 122(23): 2359-67.
25. Chow T, Saghir S, Bartone C, et al. Usefulness of microvolt T-wave alternans on predicting outcome in patients with ischemic cardiomyopathy with and without defibrillators. *Am J Cardiol*. 2007; 100: 598-604.
26. Bloomfield DM, Steinman RC, Namerow PB, et al. Microvolt T-wave alternans distinguishes between patients likely and patients unlikely to benefit from implanted cardiac defibrillator therapy: a solution to the MADIT II conundrum. *Circulation* 2004; 110: 1885-9.
27. Lopera G, Curtis AB. Risk Stratification for Sudden Cardiac Death : Current Approaches and Predictive Value. *Curr Cardiol Rev*. 2009; 5(1): 56-64 2009.
28. Maggioni AP, Zuanetti G, Franzosi MG, et al. Prevalence and prognostic significance of ventricular arrhythmias after acute myocardial infarction in the fibrinolytic era. GISSI-2 results. *Circulation* 1993; 87: 312- 322.
29. Kadish A, Dyer A, Daubert JP, et al. Prophylactic defibrillator implantation in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy. *N Eng J Med* 2004; 350: 2151-2158.
30. Goldberger JJ, Cain ME, Hohnloser SH, et al. AHA/ACC/HRS scientific statement on noninvasive risk stratification techniques for identifying patients at risk for sudden cardiac death: a scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology Committee on Electrocardiography and Arrhythmias and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2008; 118:1497-1518.
31. Padmanabhan S, Silvet H, Amin J, Pai RG. Prognostic value of QT interval and QT dispersion in patients with left ventricular systolic dysfunction: results from a cohort of 2265 with a ejection fraction of $\leq 40\%$. *Am Heart J*. 2003; 145: 132-138.
32. Bayer JD, Narayan SM, Lalani GG, Trayanova NA. Rate dependent action potential alternans in human heart failure implicates abnormal intracellular calcium handling. *Heart Rhythm* 2010; 7: 1093-1101.
33. Gold MR, Ip JH, Costantini O, et al. Role of microvolt T-wave alternans in assessment of arrhythmia vulnerability among patients with heart failure and systolic dysfunction: primary results from the T-wave alternans sudden cardiac death in heart failure trial substudy. *Circulation* 2008; 118: 2022-8.

34. Gold MR, Chilson D, Ip JH, et al. T-wave alternans SCD-HeFT Study: primary endpoint analysis. *Circulation* 2006; 114: 2113.
35. Gehi AK, Stein RH, Metz LD, Gomes JA. Microvolt T-wave alternans for the risk stratification of ventricular tachyarrhythmic events: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2005; 46: 75-82.
36. Salerno-Uriarte JA, De Ferrari GM, Klersy C, et al. Prognostic value of T-wave alternans in patients with heart failure due to nonischemic cardiomyopathy: results of the ALPHA Study. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 1896-904.
37. La Rovere MT, Bigger JT Jr, Marcus FI, et al. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. *Lancet* 1998; 351: 478-84.
38. Cygankiewicz I, Zareba W, Vazquez R, et al. Heart rate turbulence predicts all-cause mortality an sudden death in congestive heart failure patients . *Heart Rhythm* 2008; 5(8):1095-1102.
39. Ghuran A, Reid F, La Rovere MT, et al. Heart rate turbulence- based predictors of fatal and non- fatal cardiac arrest (The Automatic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction substudy). *Am J Cardiol*. 2002; 89:184-90.
40. Pathak A. Curnier D, Fourcade J, et al. QT dynamicity: a prognostic factor to sudden cardiac death in chronic hart failure. *Eur J Heart Fail*. 2005; 7: 269-75.
41. Iacoviello M, Forleo C, Guida P, et al. Ventricular repolarization dynamicity provides independent prognostic information toward major arrhythmic events in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 225-31.
42. Cygankiewicz I, Zareba W, Vazquez R, et al. Risk stratification of mortality in patients with heart failure and left ventricular ejection fraction >35%. *Am J Cardiol*. 2009; 103(7):1003-10.
43. Assomull RG, Prasad SK, Lyne J, et al. Cardiovascular magnetic resonance, fibrosis and prognosis in dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 48:1977-85.
44. Iles F, Pfluger H, Lefkovits L, et al. Myocardial fibrosis predicts appropriate device therapy in patients with implantable cardioverter- defibrillators for primary prevention of sudden cardiac death. *J Am Coll Cardiol*. 2011; 57:821-8.

45. Wu KC, Weiss RG, Thiemann DR, et al. Late gadolinium enhancement by cardiovascular magnetic resonance imaging heralds an adverse prognosis in non-ischemic cardiomyopathy. *J Am Col Cardiol.* 2008; 51: 2414-21.
46. Kanoupakis EM, Manios EG, Kallergis EM, et al. Serum markers of collagen turnover predict future shocks in implantable cardioverter- defibrillator recipients with dilated cardiomyopathy on optimal treatment. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55:2753-9.
47. Blangy H, Sadoul N, Dousset B, et al. Serum BNP, hs-CRP, procollagen to asses the risk of ventricular tachycardia in ICD recipients after myocardial infarction. *Europace* 2007; 9: 724-9.
48. Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Eng J Med.* 2004; 350:655–63.
49. Berger R, Huelsman M, Strecker K, et al. B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2002; 105:2392–7.
50. Verma A, Kilicaslan F, Martin DO. Preimplantation B- type natriuretic peptide concentration is an independent predictor of future appropriate implantable defibrillator therapies. *Heart* 2006; 92(2): 190–195.
51. Gruchała M, Rynkiewicz A. *Podstawy genetyki w kardiologii.* Via Medica, Gdańsk 2003.
52. Ferrara R, Mastrorilli F. Neurohormonal modulation in chronic hart failure. *Eur Heart J.* 2002; 4 (Supl 4): D3- D11.
53. Kober L, Torp–Pedersen C, Carlsen JE, et al. A clinical trial of the angiotensin converting enzyme inhibitor trandolapril in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Trandolapril Cardiac Evaluation (TRACE) Study Group. *N Eng J Med.* 1995; 333: 1670-1676.
54. Pitt B, Zanaad F, Remme WJ, et al. The efect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe hart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Eng J Med.* 1999; 341:701- 717.
55. Yusuf S, Sleight P, Pogue J, et all. Effects of the angiotensin- converting -enzyme inhibitor , ramipril, on cardiovascular events in high risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators . *N Eng J Med.* 2000; 342: 145-153.
56. Bedi MS, Postava LA, Murali S ,et al. Interaction of Implantable Defibrillator Therapy with Angiotenin–Converting Enzyme Deletion/Insertion Polymorphism. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2004; 15(10):1162-6.

57. Reynolds MV, Bristow, Bush EW, et al. Angiotensin converting enzyme DD genotype in patients with ischemic and dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993; 342: 1085-6.
58. Anvari A, Türel Z, Schmidt A, et al. Angiotensin converting enzyme and angiotensin II receptor1 polymorphism in coronary disease and malignant ventricular arrhythmias. *Cardiovasc Res* 1999; 43(4):879-83.
59. Voevoda MI, Kulikov IV, Maksimov VN, et al. Sudden cardiac death and polymorphism of genes- candidates of cardiovascular diseases. *Kardiologiya* 2009; 49(4):52-7.
60. Marian AJ, Yu QT, Workman R, et al. Angiotensin converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Lancet*.1993; 342(8879):1085-6.
61. Straburzyńska-Migaj E, Ochotny R, Chmara E, et al. Zmienność rytmu serca a polimorfizm I/D genu konwertazy angiotensyny u chorych z niewydolnością serca. *Folia Cariol.* 2005, tom 12, nr 5, 364-369.
62. Katz G, Arad M, Eldar M. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia from bedside to bench and beyond. *Curr Probl Cardiol.* 2009; 34(1):9–43.
63. Zareba W, Cygankiewicz I. Long QT syndrome and short QT syndrome. *Prog Cardiovasc Dis.* 2008;51(3):264–278.
64. Schulze-Bahr E. Susceptibility genes & modifiers for cardiac arrhythmias. *Prog Biophys Mol Biol.* 2008; 98(2–3):289–300.
65. Yang P, Kanki H, Rolet B , et al. Allelic variants in long QT disease genes in patients with drug associated torsades de pointes. *Circulation* 2002; 105: 1943-48.
66. Splawski I, Timothy KW, Tateyama M, et all. Variant of SCN5A sodium channel implicated in risk of cardiac arrhythmia. *Science* 2002; 297: 1333-1336.
67. Anson BD, Akerman MJ, Tester DJ, et al.. Molecular and functional characterization of common polymorphisms in HERG (KCNH2) potassium channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: 2434- 2431.
68. Sun AY, Koontz JH, Shah SH, et al. The S1103 cardiac sodium channel variant is associated with implantable cardioverter- defibrillator events in blacks with heart failure and reduced ejection fraction. *Circ Cardiovasc Genet.* 2011;4(2):163-8.
69. Pogwizd SM, Bers DM. Cellular basis of triggered arrhythmias in hart failure. *Trends Cardiovasc Med* 2004; 14: 61-66.
70. Darbar D. Genomics, hart failure and sudden cardiac death. *Heart Fail Rev.* 2010;15(3): 229-238.

71. Ran Y, Chen Ji, Li N, et al. Common RyR 2 variants associate with ventricular arrhythmias and sudden death in chronic heart failure. *Clinical Science* 2010;119:215-223.
72. Banna M, Indik J. Risk stratification and prevention of sudden death in patients with heart failure. *Curr Treat Options in Cardiovasc Med.* 2011; 13:517-527.
73. Gustein DE, Morley GE, Tamaddon H, et al. Conduction slowing and sudden arrhythmic death in mice with cardiac – restricted inactivation of connexin 43. *Circ Res.* 2001; 88:333-9.
74. CIBIS II Investigators. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS II): a randomised trial. *Lancet* 1999; 353:9-13
75. Gollob MH. Genetic profiling as a marker for risk of sudden cardiac death. *Curr Opin Cardiol.* 2006; 21(1):42-6.
76. Mason DA, Moore JD, Green SA, Liggett SB. A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human beta 1-adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1999;274:12670–4.
77. Bengtsson K, Melander O, Orho-Melander M, et al. Polymorphism in the β 1-adrenergic receptor gene and hypertension. *Circulation* 2001; 104:187–90.
78. La Rosee K, Huntgeburth M, Rosenkranz S, et al. The Arg389Gly beta(1) -adrenoceptor gene polymorphism determines contractile response to catecholamines. *Pharmacogenetics* 2004; 14:711–6.
79. Metra M, Zani C, Covolo L, et al. Role of β 1 and α 2- adrenergic receptor polymorphisms and their combination in heart failure: a case-control study. *Eur J Heart Fail.* 2006; 8:131–5.
80. Covolo L, Gelatti U, Metra M, et al. Role of beta 1- and beta 2-adrenoceptor polymorphisms in heart failure: a case-control study. *Eur Heart J* 2004; 25:1 534–41.
81. White HL, de Boer RA , Maqbool A, et al. An evaluation of the β -1 adrenergic receptor Arg 389Gly polymorphism in individuals with heart failure: a MERIT – HF sub- study. *The Eur J Heart Fail.* 2003; 5: 463-468.
82. De Groote P, Lamblin N, Helbecque N, et al. The impact of beta- adrenoceptor gene polymorphisms on survival in patients with congestive hart failure. *Eur J Heart Fail* 2005;7: 966-973.
83. Perez JM, Rathz DA, Petrashevskaya NN, et al. β 1-adrenergic receptor polymorphisms confer differential function and predisposition to heart failure. *Nat Med* 2003;9:1300–5.

84. Terra SG, Hamilton KK, Pauly DF, et al. Beta1-adrenergic receptor polymorphisms and left ventricular remodeling changes in response to beta-blocker therapy. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15:227–34.
85. Lobmeyer MT, Gong Y, Terra SG, et al. Synergistic polymorphisms of beta1 and alpha2c-adrenergic receptors and the influence on left ventricular ejection fraction response to beta-blocker therapy in heart failure. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17:277–82.
86. von Beckerath N, Schusterschitz Y, Koch W, et al. G protein beta 3 subunit 825T allele carriage and risk of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2003;167(1):135-9.
87. Siffert W, Roskopf D, Siffert G, et al. Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet.* 1998;18(1):45-8.
88. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 40(2):115-26.
89. Naber CK, Husing J, Wolfhard U, Erbel R, Siffert W. Interaction of the ACE D allele and the GNB3 825T allele in myocardial infarction. *Hypertension.* 2000;36(6):986-9
90. Meirhaeghe A, Bauters C, Helbecque N, et al. The human G-protein beta3 subunit C825T polymorphism is associated with coronary artery vasoconstriction. *Eur Heart J.* 2001; 22(10):845-8.
91. Bae Y, Park C, Han J, et al. Interaction between GNB3 C825T and ACE I/D polymorphisms in essential hypertension in Koreans. *J Hum Hypertens.* 2007;21(2):159-66.
92. Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E. C825T polymorphism of the G protein beta(3)-subunit and antihypertensive response to a thiazide diuretic. *Hypertension.* 2001; 37(2 Part 2): 739-43.
93. Siffert W, Forster P, Jöckel K H et al. Worldwide Ethnic Distribution of G Protein β 3 subunit 825T allele and its Association with Obesity in Caucasian, Chinese, and black Afrikan Individuala. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:1930-1999.
94. Poch E, Giner V, González-Núñez DI, et al . Association of the G protein beta3 subunit T allele with insulin resistance in essential hypertension. *Clin Exp Hypertens.* 2002 Jul;24(5):345-53.
95. Morrison AC, Doris PA, Folsom AR, et al. Atherosclerosis Risk in Communities Study. G-protein beta3 subunit and alpha-adducin polymorphisms and risk of subclinical and clinical stroke. *Stroke.* 2001;32(4):822-9.

96. Biolo A, Clausell N, Santos KG, et al. Impact of β 1- adrenergic receptor polymorphism on susceptibility to heart failure, arrhythmogenesis, prognosis, and response to beta-blocker therapy. *Am J Cardiol.*2008; 102: 726-732.
97. Iwai C, Akita H, Shiga, et al. Suppressive effect of Gly 389 Allele of the β 1–adrenergic receptor gene on the occurrence of ventricular tachycardia in dilated cardiomyopathy. *Circ J* 2002; 66: 723-728.
98. Sotoodena N, Siscovick DS, Vatta M, et al. β 2 adrenergic receptor genetic variants and risk of sudden cardiac death. *Circulation* 2006; 113:1842-1848.
99. Tseng ZH, Aouizerat BE, Pawlikowska L, et al. Common β -adrenergic receptor polymorphisms are not associated with risk of sudden cardiac death in patients with coronary artery disease. *Heart Rhythm* 2008; 5(6), 814-821.
100. Chemello D, Rohde LE, Santos KG, et al. Genetic polymorphisms of the adrenergic system and implantable cardioverter- defibrillator therapies in patients with heart failure. *Europace* 2010;12 686-691.
101. Wieneke H, Naber CN, Piaszek L, et al. Better identification of patients who benefit from implantable cardioverter- defibrillators by genotyping the G protein β 3 subunit (GNB3) C825 T polymorphism. *Basic Res Cardiol.* 2006; 101:447-451.
102. Wieneke H, Spencker S, Svendsen JH, et al.. Polymorphisms associated with ventricular arrhythmias: rationale, design, and endpoints of the diagnostic data influence on disease management and relation of genomics to ventricular tachyarrhythmias in implantable cardioverter/defibrillator patients (DISCOVERY) study. *Europace* 2010; 12: 424-429.
103. Cumming GR, Boryski L.M. criteria for maximum oxygen uptake In men over 40 in a population survey. *Med. Sci. Spor Exerc.* 1972;14:18-22.
104. Wasserman K, Hansen JE, Sue DY. Principles of exercise testing and interpretation . Lea and Febiger, Philadelphia, PA 1986.
105. Bristow MR. Beta-adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. *Circulation* 2000; 101: 2877–82.
106. Metra M, Nodari S, D'Aloia A et al. A rationale for the use of beta-blockers as standard treatment for heart failure. *Am Heart J.* 2000; 139:511–21.
107. Bohm M, Flesch M, Schnabel P. Beta-adrenergic signal transduction in the failing and hypertrophied myocardium.*J Mol Med.*1997; 75: 842–8.

108. Liggett SB, Wagoner LE, Craft LL et al. The Ile 164 b2-adrenergic receptor polymorphisms adversely affects the outcome of congestive heart failure. *J Clin Invest.*1998; 102: 1534–9.
109. Liggett SB. Polymorphisms of the b 2-adrenergic receptor and asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 156 :S156–62.
110. Green SA, Turki J, Innis M et al. Amino-terminal polymorphisms of the human b 2-adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry* 1994; 33: 9414–9.
111. Humma LM, Puckett BJ, Richardson HE, et al. Effects of beta1- adrenoceptor genetic polymorphisms on resting hemodynamics in patients undergoing diagnostic testing for ischemia. *Am J Cardiol* 2001; 88:1034–7.
112. Petersen M, Andersen JT, Jimenez-Solem E, et al. Effect of the Arg389Gly β -adrenoceptor polymorphism on plasma renin activity and heart rate, and the genotype-dependent response to metoprolol treatment. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012; 39(9): 779-85.
113. Parvez B, Chopra N, Rowan S, et al. A common β 1-adrenergic receptor polymorphism predicts favorable response to rate-control therapy in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol.* 2012 Jan 3;59(1):49-56. doi: 10.1016/j.jacc.2011.08.061.
114. Pączkowska A, Szperl M, Małek Ł, et al. Polymorphisms of the beta-1 and beta-2 adrenergic receptors in Polish patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Kardiol Pol* 2009; 67: 235-241.
115. Whang W, Mittleman MA, Rich DQ et al. Heart failure and the risk of shocks in patients with implantable cardioverter defibrillators: results from the Triggers Of Ventricular Arrhythmias (TOVA) study. *Circulation* 2004;109:1386–91.
116. Connolly SJ, Hallstrom AP, Cappato R et al. Meta-analysis of the implantable cardioverter defibrillator secondary prevention trials. AVID, CASH and CIDS studies. Antiarrhythmics vs. Implantable Defibrillator study. Cardiac Arrest Study Hamburg. Canadian Implantable Defibrillator Study. *Eur Heart J* 2000;21:2071–8.
117. Yu C M, Sanderson J E. Plasma brain natriuretic peptide- an independent predictor of cardiovascular mortality in acute heart failure. *Eur J Heart Fail* 1999. 159–65.65.
118. Tapanainen J M, Lindgren K S, Makikallio T H. et al Natriuretic peptides as predictors of non sudden and sudden cardiac death after acute myocardial infarction in the beta blocking era. *J Am Coll Cardiol* 2004. 43757–763.763.

119. Galante O, Amit G, Zahger D, Wagshal A, et al. B-type natriuretic peptide levels stratify the risk for arrhythmia among implantable cardioverter defibrillator patients. *Clin Cardiol.* 2008; 31(12):586-9.
120. Uriel N, Torre-Amione G, Milo O, et al. Echocardiographic ejection fraction in patients with acute heart failure: correlations with hemodynamic, clinical, and neurohormonal measures and short-term outcome. *Eur J Heart Fail.* 2005; 7(5):815-9.
121. Kannel WB, Belanger AJ. Epidemiology of heart failure. *Am Heart J* 1991; 121:951-7.
122. Kjekshus J, Pedersen TR, Olsson AG, et al. The effects of simvastatin on the incidence of heart failure in patients with coronary heart disease. *J Card Fail* 1997;3:249-54.
123. Christ M, Klima T, Grimm W, et al. Prognostic significance of serum cholesterol levels in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2006; 27:691-9.
124. Kalantar-Zadeh K, Block G, Horwich T, et al. Reverse epidemiology of conventional cardiovascular risk factors in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1439-44.
125. Wedel H, McMurray JJ, Lindberg M, et al. Predictors of fatal and non-fatal outcomes in the Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure (CORONA): incremental value of apolipoprotein A-1, high-sensitivity C-reactive peptide and N-terminal pro B-type natriuretic peptide. *Eur J Heart Fail.* 2009 Mar;11(3):281-91.
126. Tavazzi L, Maggioni AP, Marchioli R, et al. Effect of rosuvastatin in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2008; 372(9645): 1231-9.
127. Krum H, Ashton E, Reid C, et al.: Double-blind, randomized, placebo-controlled study of high-dose HMG CoA reductase inhibitor therapy on ventricular remodeling, proinflammatory cytokines and neurohormonal parameters in patients with chronic systolic heart failure. *J Card Fail.* 2007, 13:1–7.
128. Kjekshus J, Apetrei E, Barrios V, et al.: Rosuvastatin in older patients with systolic heart failure. *N Engl J Med* 2007, 357:2248–2261.
129. Das MK, Zipes DP. Antiarrhythmic and nonantiarrhythmic drugs for sudden cardiac death prevention. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2010 May; 55(5): 438-49.
130. Beri A, Contractor T, Gardiner JC, Ardhanari S, Thakur R. Reduction in the intensity rate of appropriate shocks for ventricular arrhythmias with statin therapy. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2010 Aug;56(2):190-4.

131. Watanabe H, Tanabe N, Yagihara N, et al. Association between lipid profile and risk of atrial fibrillation. *Circ J*. 2011;75(12):2767-74.
132. Psaty BM, Manolio TA, Kuller LH, et al. Incidence of and risk factors for atrial fibrillation in older adults. *Circulation* 1997; 96: 2455 – 2461.
133. Annoura M, Ogawa M, Kumagai K, Zhang B, Saku K, Arakawa K. Cholesterol paradox in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Cardiology* 1999; 92: 21 – 27.
134. De Sutter J, Tavernier R, De Buyzere M, et al. Lipid lowering drugs and recurrences of life-threatening ventricular arrhythmias in high-risk patients. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(3): 766-72.
135. Coleman CI, Kluger J, Bhavnani S, et al. Association between statin use and mortality in patients with implantable cardioverter-defibrillators and left ventricular systolic dysfunction. *Heart Rhythm*. 2008 Apr;5(4):507-10.
136. Beri A, Contractor T, Khasnis A, Thakur R. Statins and the reduction of sudden cardiac death: antiarrhythmic or anti-ischemic effect? *Am J Cardiovasc Drugs*. 2010; 10(3):155-64.
137. van Gelder IC, Phan HM, Wilkoff BL, et al. Prognostic significance of atrial arrhythmias in a primary prevention ICD population. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2011 Sep;34(9):1070-9.
138. Smit MD, Van Dessel PF, Rienstra M, et al. Atrial fibrillation predicts appropriate shocks in primary prevention implantable cardioverter-defibrillator patients. *Europace*. 2006; 8(8): 566-72.
139. Neuberger HR, Mewis C, van Veldhuisen DJ, et al. Management of atrial fibrillation in patients with heart failure. *Eur Heart J*. 2007; 28(21):2568-77.
140. Ramires FJ, Mansur A, Coelho O, et al. Effect of spironolactone on ventricular arrhythmias in congestive heart failure secondary to idiopathic dilated or to ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2000; 85(10):1207-11.
141. Pitt B, Remme W, Zannad F, et al. Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study Investigators. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2003 Apr 3;348(14):1309-21. Epub 2003 Mar 31.
142. Pitt B, Pitt GS. Added benefit of mineralocorticoid receptor blockade in the primary prevention of sudden cardiac death. *Circulation* 2007; 115(23):2976-82.

