



Katedra i II Klinika Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

ROZPRAWA NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH

lek. med. Wioletta Sacharczuk

**Ocena odpowiedzi na leczenie antagonistami aldosteronu
u chorych ze skurczową niewydolnością serca. Rola
polimorfizmów M235T i T174 M genu angiotensynogenu.**

Promotor

prof. dr hab. n. med. Andrzej Szyszka

Poznań, 2014

Składam serdeczne podziękowania :

*Promotorowi,
za opiekę merytoryczną, cenne uwagi i sugestie,
za zaangażowanie, dzięki któremu możliwe było napisanie tej pracy.*

*Rodzinie,
za cierpliwość i wsparcie w trakcie pisania pracy.*

Spis treści

Spis treści.....	3
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW	8
1. WSTĘP	11
1.1. Definicja i podział niewydolności serca	11
1.2. Etiopatogeneza niewydolności serca.....	13
1.3. Dualistyczna koncepcja uszkodzenia lewej komory w niewydolności serca .	13
1.3.1. Rola układu RAA.....	17
1.3.2. Ogólnoustrojowy i tkankowy wpływ działania aldosteronu.....	18
1.3.3. Rola aldosteronu w niewydolności serca.....	19
1.3.4. Kliniczne zastosowanie antagonistów aldosteronu.....	20
1.4. Znaczenie polimorfizmów genu angiotensynogenu w chorobach serca.....	21
1.5. Ocena stężenia peptydów natiuretycznych w niewydolności serca.....	23
1.6. Badanie echokardiograficzne	24
1.6.1. Ocena morfologii i funkcji skurczowej lewej komory	25
1.6.2. Ocena frakcji wyrzutowej.....	26
1.6.3. Odcinkowa kurczliwość lewej komory.....	27
1.7. Nowe spojrzenie na funkcję lewej komory	28
1.8. Zaawansowane techniki oceny odkształcenia i tempa odkształcenia miokardium	29
1.8.1. Metoda śledzenia markera akustycznego (STE ang. speckle tracking echocardiography)	30
1.8.2. Odkształcenie podłużne	31
1.8.3. Odkształcenie radialne	32
1.8.4. Odkształcenie okrężne	32
1.8.5. Deformacja skrętna lewej komory	33
2. CEL BADANIA	35

3.	MATERIAŁ I METODY	36
3.1.	Charakterystyka grupy	36
3.2.	Schemat wizyt	37
3.3.	Wykonane badania	37
3.3.1.	Badanie podmiotowe	37
3.3.2.	Badanie przedmiotowe	38
3.3.3.	Próba wysiłkowa.....	38
3.3.4.	EKG	39
3.4.	Analiza laboratoryjna	39
3.4.1.	Morfologia krwi obwodowej oraz ocena stężenia potasu, kreatyniny i NT- pro BNP.....	39
3.4.2.	Ocena stężenia aldosteronu.....	39
3.4.3.	Ocena polimorfizmów genu angiotensynogenu	39
3.5.	Badanie echokardiograficzne	44
3.6.	Analiza statystyczna.....	49
4.	WYNIKI.....	50
4.1.	Opis grupy badanej	50
4.2.	Ocena parametrów badania podmiotowego	51
4.3.	Ocena parametrów badania przedmiotowego	54
4.4.	Badania laboratoryjne	55
4.4.1.	Ocena morfologii krwi, kreatyniny, potasu i NT- pro BNP.	55
4.4.2.	Ocena NT- pro BNP	57
4.5.	Ocena próby wysiłkowej.....	58
4.6.	Badanie echokardiograficzne	60
4.6.1.	Ocena tradycyjnych parametrów echokardiograficznych.....	60
4.6.2.	Ocena parametrów odkształcenia okrężnego.....	63
4.6.3.	Ocena parametrów odkształcenia radialnego	68

4.6.4.	Maksymalne skurczowe odkształcenie podłużne	72
4.6.5.	Ocena rotacji lewej komory	74
4.6.6.	Ocena skrętu lewej komory	76
5.	KORELACJE.....	78
5.1	Wpływ nosicielstwa T235T na oceniane parametry.	78
5.1.1.	Wpływ nosicielstwa T235T na wartości stężeń NT- pro BNP.....	78
5.1.2.	Wpływ nosicielstwa T235T na subiektywnie ocenianą tolerancję wysiłku.	80
5.1.3.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości frakcji wyrzutowej.....	81
5.1.4.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia podłużnego lewej komory.	82
5.1.5.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości skrętu lewej komory. ..	83
5.1.6.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory.	84
5.1.7.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory	85
5.1.8.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej lewej komory.....	86
5.1.9.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory.	87
5.1.10.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory.	88
5.1.11.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka lewej komory.	89
5.1.12.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie koniuszka lewej komory	90
5.1.13.	Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości rotacji na poziomie koniuszka lewej komory	91

5.2. Wpływ podwyższonego stężenia aldosteronu i nosicielstwa T235T na badane parametry	92
5.2.1. Wpływ nosicielstwa T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę stężeń NT- pro BNP	92
5.2.2. Wpływ nosicielstwa T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na subiektywną ocenę tolerancji wysiłkowej.....	93
5.2.3. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę wartości frakcji wyrzutowej lewej komory.	95
5.2.4. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory.....	96
5.2.5. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia radialnego poziomu zastawki mitralnej lewej komory.....	97
5.2.6. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej lewej komory.....	99
5.2.7. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia okrężnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory.....	100
5.2.8. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory.....	102
5.2.9. Wpływ nosicielstwa T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka lewej komory.....	103
5.2.10. Wpływ nosicielstwa T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia radialnego na poziomie koniuszka lewej komory.....	105

5.2.11.	Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości rotacji na poziomie koniuszka lewej komory.....	106
5.2.12.	Wpływ nosicielstwa T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia podłużnego lewej komory.	108
5.2.13.	Wpływ nosicielstwa T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości skrzywienia lewej komory.....	109
6.	PODSUMOWANIE WYNIKÓW.....	111
6.1.	Grupa parametrów tradycyjnie oceniających zaawansowanie niewydolności serca.....	111
6.2.	Parametry echokardiograficzne ocenione techniką STE.....	111
6.3.	Ocena korelacji.....	112
7.	DYSKUSJA.....	113
8.	WNIOSKI.....	121
9.	STRESZCZENIE	122
10.	ABSTRACT	124
11.	LITERATURA.....	126

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

- 2CH – projekcja dwu-jamowa; (*ang. two-chamber*)
- 3CH – projekcja trój-jamowa; (*ang. three-chamber*)
- 4CH – projekcja cztero-jamowa; (*ang. four-chamber*)
- ACE – konwertaza angiotensyny; (*ang. angiotensin converting enzyme*)
- ACEI – inhibitor enzymu konwertującego angiotensynę; (*ang. angiotensin-converting-enzyme inhibitor*)
- ACTH – hormon adrenokortykotropowy; (*ang. adrenocorticotropic hormone*)
- AFI – automatyczne obrazowanie (tłumaczenie własne); (*ang. automated function imaging*)
- ANT – przedni; (*ang. anterior*)
- ANT-SEP – przednio-przegrodowy; (*ang. antero-septum*)
- AP-1 – czynniki transkrypcyjny 1; (*ang. activator protein 1*)
- AP –C – odkształcenie okrężne na poziomie koniuszka; (*ang. apex circumferential strain*)
- AP-RA – odkształcenie radialne na poziomie koniuszka; (*ang. apex radial strain*)
- AP-RO – rotacja na poziomie koniuszka; (*ang. apex valve rotation*)
- AP-SAX – projekcja przymostkowa w osi krótkiej na poziomie koniuszka; (*ang. short axis apex*)
- ARB – antagoniści receptora angiotensynowego; (*ang. angiotensin receptor blocker*)
- AT1 – angiotensyna 1; (*ang. angiotensin type 1*)
- AVC – zamknięcie zastawki aortalnej; (*ang. aortic valve closure*)
- BNP – peptyd natriuretyczny typ B; (*ang. B-natriuretic peptide*)
- DTI –dopler tkankowy; (*ang. tissue dopler imaging*)
- EDTA – kwas edetynowy; (*ang. ethylenediaminetetraacetate*)
- EMPHASIS-HF – (*ang. eplerenone in mild patients hospitalization and survival study in heart failure*)
- EPHESUS – (*ang. eplerenone heart failure efficacy and survival study*)
- HF-PEF – niewydolność serca z zachowaną frakcją wyrzutową lewej komory; (*ang. heart failure with preserved ejection fraction*)
- HF-REF – niewydolność serca z obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory; (*ang. heart failure with reduced ejection fraction*)
- INF – dolny; (*ang. inferior*)

IVS – przegroda międzykomorowa; (*ang. interventricular septum*)

LAT – boczny; (*ang. lateral*)

LAX – projekcja przymostkowa w osi długiej; (*ang. long axis*)

LGS – podłużne odkształcenie globalne; (*ang. longitudinal global strain*)

LVEDP – ciśnienie późno-rozkurczowe lewej komory; (*ang. left ventricular end-diastolic pressure*)

LVEDV – objętość późno-rozkurczowa lewej komory; (*ang. left ventricular end-diastolic volume*)

LVEF – frakcja wyrzutowa lewej komory; (*ang. left ventricular ejection fraction*)

LVESd – wymiar późno-skurczowy lewej komory; (*ang. left ventricular end-systole diameter*)

LVPW – ściana tylna lewej komory; (*ang. left ventricular posterior wall*)

LVSF – frakcja skracania; (*ang. left ventricular shortening fraction*)

MAPSE – ocena ruchu pierścienia mitralnego; (*ang. systolic excursion of the lateral mitral annulus*)

MET – ekwiwalent metaboliczny; (*ang. metabolic equivalent*)

MV-C – odkształcenie okrężne na poziomie zastawki mitralnej; (*ang. mitral valve circumferential strain*)

MV-RA – odkształcenie radialne na poziomie zastawki mitralnej; (*ang. mitral valve radial strain*)

MV-RO – rotacja na poziomie zastawki mitralnej; (*ang. mitral valve rotation*)

MV-SAX – projekcja przymostkowa w osi krótkiej na poziomie zastawki mitralnej; (*ang. short axis mitral valve level basal*)

NF – κB – jądrowy czynnik transkrypcyjny aktywowanych komórek B; (*ang. nuclear factor kappa-light-chain- enhancer of activated B cells*)

NT- pro BNP – N - końcowy propeptyd natriuretyczny typu B; (*ang. N-terminal pro-B type natriuretic peptide*)

OZW – ostry zespół wieńcowy

PM-C – odkształcenie okrężne na poziomie mięśni brodawkowatych; (*ang. papillar muscle circumferential strain*)

PM-RA – odkształcenie okrężne na poziomie mięśni brodawkowatych; (*ang. papillar muscle radial strain*)

PM-SAX – projekcja przymostkowa w osi krótkiej na poziomie mięśni brodawkowatych; (*ang. short axis papillary level mid-cavity*)

POST – dolno-boczny, tylny; (*ang. posterior*)

PTCA – przezskórna angioplastyka wieńcowa; (*ang. percutaneous transluminal coronary angioplasty*)

PWd – wymiar ściany tylnej w rozkurczu; (*ang posterior wall diastolic diametr*)

RAAS – układ renina- angiotensyna- aldosteron; (*ang. renin angiotensin aldosterone system; or RAA – renin angiotensin aldosterone*)

RALES – (*ang. randomised aldactone evaluation study*)

ROI – obszar obrazowania; (*ang. region of interest*)

SEP – dolno-przegrodowy, tylno-przegrodowy; (*ang. septum*)

SR – tempo odkształcenia; (*ang. strain rate*)

STE – echokardiograficzna technika śledzenia markera akustycznego (*ang. speckle tracking echocardiography*)

WMSI – wskaźnik kurczliwości; (*ang. wall motion index score*)

1. WSTĘP

1.1. Definicja i podział niewydolności serca

Niewydolność serca to stan kliniczny, w którym dochodzi do zmniejszenia pojemności minutowej serca w stosunku do zapotrzebowania metabolicznego tkanek ustroju, bądź właściwa pojemność minutowa jest utrzymywana dzięki podwyższeniu napełniania. Do niewydolności serca prowadzą zaburzeniami struktury i/lub funkcji serca. [1,2] Najczęstsze odchylenia w badaniu podmiotowym i przedmiotowym oraz w badaniach dodatkowych prezentuje tab. nr 1.

Tab. 1. Najczęściej występujące odchylenia w poszczególnych badaniach.

Objawy kliniczne	
W badaniu podmiotowym	uczucie duszności wysiłkowej uczucie duszności spoczynkowej obniżona tolerancja wysiłkowa
W badaniu przedmiotowym	tachykardia tachypnoe zwiększone wypełnienie żył szyjnych powiększenie wątroby obrzęki
W badaniach dodatkowych	powiększenie sylwetki serca szmery nad sercem nieprawidłowości w badaniu echokardiograficznym podwyższone wartości peptydu natiuretycznego.

Niewydolność serca z uwzględnieniem kryteriów czasowych, dzieli się na nowopowstałą, przemijającą oraz przewlekłą. Podział oraz cechy charakterystyczne prezentuje tab. nr 2.

Tab. 2. Podział niewydolności serca, z uwagi na czas trwania objawów.

Świeża (de novo)	rozpoznana po raz pierwszy, początek ostry lub powolny
Przemijająca	ustępująca po zaprzestaniu działania niekorzystnego czynnika
Przewlekła	stabilna lub pogarszająca się / zdekompensowana

Podział niewydolności serca z uwzględnieniem typu uszkodzenia funkcji serca prezentuje tab. nr 3. Większość chorych prezentuje zarówno objawy dysfunkcji skurczowej i rozkurczowej lewej komory. Podział chorych na grupy z niewydolnością skurczową i rozkurczową jest więc umowny. [1,3,5]

Tab. 3. Podział niewydolności serca z uwagi na typ uszkodzenia funkcji serca.

Skurczowa	HF-REF– niewydolność serca z obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory. Wartość odcięcia dla LVEF nie jest jednoznacznie ustalona, w większości źródeł 45-50%
Rozkurczowa	HF-PEF– niewydolność serca z zachowaną funkcją wyrzutową lewej komory. LVEF przekracza 40-50%

W celu oceny nasilenia objawów niewydolności serca, zaleca się posługiwanie skalą oceny klinicznej wg New York Heart Association (NYHA). Wyróżnia się IV klasy wydolności wysiłkowej. Cechy charakterystyczne każdej z klas przedstawia tab. nr 4.

Tab. 4. Klasy niewydolności serca.

Klasa I	bez ograniczenia aktywności fizycznej zwykła aktywność codzienna nie powoduje uczucia zmęczenia, uczucia kołatania serca ani duszności
Klasa II	niewielkie ograniczenie aktywności fizycznej w spoczynku nie występują objawy duszności, kołatania serca ani zmęczenia codzienne czynności mogą powodować powstanie ww. objawów

Klasa III	znaczne ograniczenie tolerancji wysiłku w spoczynku nie występują objawy duszności, kołatania serca ani zmęczenia niewielki wysiłek prowokuje ww. objawy
Klasa IV	objawy duszności, zmniejszonej tolerancji wysiłkowej lub kołatania serca pojawiają się przy najmniejszym wysiłku oraz w spoczynku

1.2. Etiopatogeneza niewydolności serca

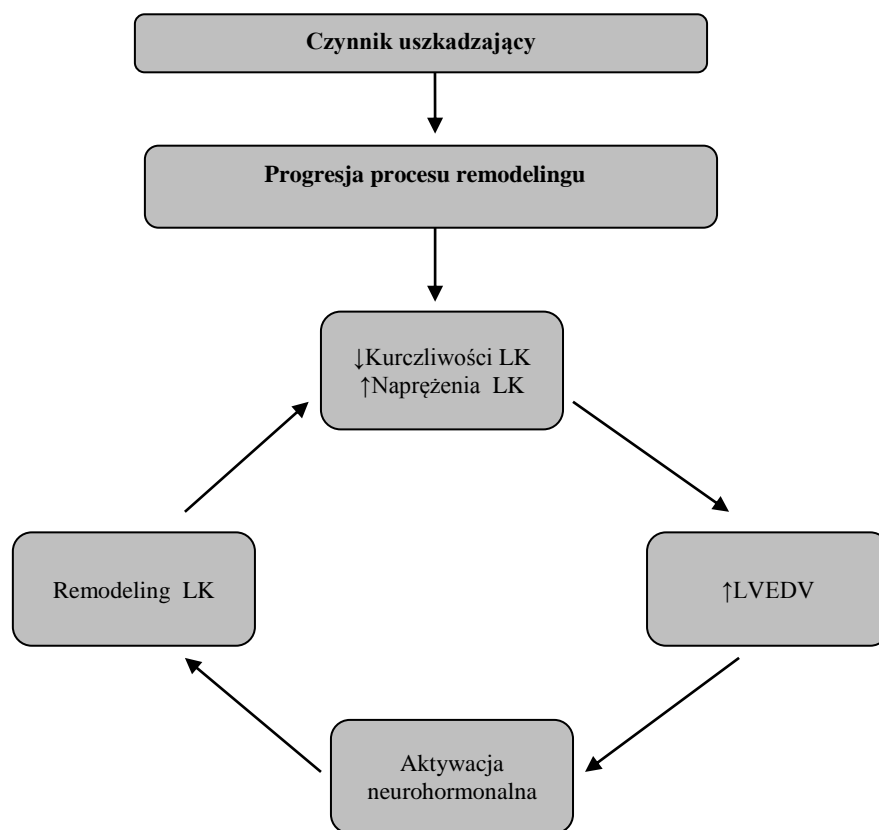
Za rozwój ponad 75% przypadków przewlekłej niewydolności odpowiada choroba niedokrwienna serca (zwłaszcza zawał serca) oraz źle kontrolowane nadciśnienie tętnicze. W dalszej kolejności: wady zastawkowe, kardiomiopatie, choroby osierdzia, zaburzenia rytmu serca (szczególnie migotanie przedsionków).

Niewydolność serca dotyczy około 2-3% populacji europejskiej. Szacuje się, że w Polsce objawy niewydolności serca prezentuje około 500-750 tysięcy pacjentów. Zachorowalność rośnie z wiekiem. Po 75 r. ż. dotyczy nawet 10% populacji. [1,4] W Rotterdam Study zachorowalność wśród pacjentów w przedziale wiekowym 55-64 lata wynosiła 2,5/1000 osób/rok, natomiast w grupie chorych powyżej 85 r. ż. 44/1000 osób /rok. [7] Wśród młodszych chorych, większą zachorowalnością obarczeni są mężczyźni, co wynika z częstszej zapadalności mężczyzn na chorobę niedokrwienną serca.

1.3. Dualistyczna koncepcja uszkodzenia lewej komory w niewydolności serca

W patogenezie rozwoju przewlekłej niewydolności serca, oprócz czynników mechaniczno-hemodynamicznych, ogromną rolę odgrywa zaburzona równowaga neurohormonalna, przede wszystkim na poziomie tkankowym. Zgodnie z aktualną wiedzą dotyczącą patomechanizmu niewydolności serca, wyróżniamy trzy fazy prowadzące do remodelingu serca. W każdej fazie remodelingu lewej komory czynniki mechaniczne i neurohormonalne odgrywają istotną rolę. W odpowiedzi na zwiększone obciążenie serca, takie jak: zawał serca, nadciśnienie tętnicze, wada zastawkowa, aktywowane są wewnątrzsercowe mechanizmy regulacyjne, wynikające z prawa

Franka– Starlinga oraz natychmiastowe, ogólnoustrojowe reakcje neurohormonalne, polegające na aktywacji układu współczulnego, wazopresyny oraz układu RAAS. Adaptacja natychmiastowa wywiera na mięsień sercowy efekt inotropowy i chronotropowy dodatni, co w początkowym etapie przekłada się korzystnie na zwiększenie rzutu skurczowego i pojemności minutowej serca. [7] Jednak przedłużający się wpływ zwiększonego naprężenia mechanicznego lewej komory oraz zwiększony wydatek energetyczny komórek mięśnia sercowego, doprowadza do fazy adaptacji przewlekłej i wtórnego remodelingu lewej komory (ryc. 1).



Ryc. 1. Błędne koło procesu remodelingu lewej komory. Rola czynników mechanicznych oraz neurohormonalnych.

Procesy remodelingu dokonują się poprzez zmianę ekspresji genów, która aktywuje szlaki odpowiedzi komórkowej tzw. pro-przerostowe (pro life). [7] Początkowo dochodzi do fizjologicznego, a następnie patologicznego przerostu mięśnia sercowego. Jednocześnie tracą na znaczeniu elementy adaptacji natychmiastowej. Przerost kompensacyjny lewej komory może polegać na jego

grubieniu, dając obraz przerostu koncentrycznego lub rozstrzeni. Wtórnie do zwiększonego afterload (obciążenia następczego), obserwowanego w przypadku choroby nadciśnieniowej lub zwężenia zastawkowego, dochodzi do przerostu kardiomiocytów na grubość. W tym przypadku zachowana jest czynność skurczowa miokardium, upośledzona natomiast zostaje funkcja rozkurczowa. Przewlekający się stan przeciążenia objętościowego, skutkuje zwiększeniem objętości i ciśnienia późno-rozkurczowego lewej komory, a tym samym przerostem kardiomiocytów na długość. Dochodzi do przerostu ekscentrycznego lewej komory, co konsekwentnie prowadzi do dysfunkcji skurczowej i rozkurczowej lewej komory. Najczęściej do tego typu przebudowy doprowadzają niedomykalności zastawek mitralnej i aortalnej.

Tab. 5. Trzy poziomy przebudowy lewej komory.

poziom narządowy – zmiany rozmiarów i kształtu lewej komory	<p>przerost koncentryczny lub ekscentryczny lewej komory</p> <p>ścieńczenie ścian lewej komory</p> <p>zmiana geometrii lewej komory na kulisty</p> <p>poszerzenie pierścienia mitralnego z wtórną niedomykalnością mitralną</p>
poziom tkankowy	<p>apoptoza kardiomiocytów</p> <p>zmiany w macierzy pozakomórkowej pod postacią włóknienia, degradacji rusztowania łącznotkankowego</p>
poziom komórkowy – zmiany na poziomie ekspresji białek regulatorowych i cyto-strukturalnych kardiomiocyta	<p>zmiana ekspresji białek aparatu kurczliwego i ekspresja genów płodowych</p> <p>zmiany ekspresji białek szkieletu komórkowego</p> <p>zaburzenia obiegu jonów wapnia</p> <p>zaburzenia sygnalizacji komórkowej receptorów beta- adrenergicznych</p> <p>zmiany ekspresji kanałów jonowych i koneksonów</p>

W przypadku choroby niedokrwiennej, patogeneza przebudowy serca jest nieco inna. Epizody ostrego lub przewlekłego niedokrwienia mięśnia sercowego, w mechanizmie nekrozy i/lub apoptozy prowadzą do lokalnych i globalnych zaburzeń

kurczliwości mięśnia sercowego. Obniża się tym samym frakcja wyrzutowa lewej komory (LVEF), zwiększa się objętość późno-rozkurczowa (LVEDV). W odpowiedzi na czynnik mechaniczny, uruchamiane są opisane wyżej mechanizmy kompensacyjne dla obciążenia objętościowego, co skutkuje przerostem lewej komory. Na tym etapie możliwe jest osiągnięcie stabilizacji hemodynamicznej, tym samym zmniejsza się aktywacja układu współczulnego, stabilizuje się układ RAA, jednocześnie przerwane zostaje błędne koło adaptacyjnego remodelingu. W takim stanie wyrównania, chorzy mogą pozostawać przez długi okres. U części pacjentów dochodzi jednak do dekompensacji. Nie jest jednoznacznie wyjaśnione, kiedy przerost kompensacyjny, zarówno koncentryczny jak i ekscentryczny, przestaje być fizjologiczny i przybiera wymiar patologiczny.

Zwraca się uwagę na dużą rolę aktywności układu neurohormonalnego w tym procesie. [7] Uruchamiane są dalsze procesy remodelingu, co w ostateczności doprowadza do objawów niewydolności serca. Sytuacja ta może być wynikiem ponownego zawału, progresji wady zastawkowej, niekontrolowanego nadciśnienia tętniczego. Nie jest możliwe jednoznaczne ustalenie mechanizmu, który doprowadza do fazy postępującej niekorzystnej przebudowy serca. [7] Bierze się pod uwagę wyczerpanie wewnątrzkomórkowego szlaku pro przerostowego (pro-life), w stosunku do nadmiernego obciążenia miokardium.

Paradoksalnie, im bardziej zaawansowana niewydolność serca, tym większe jest obciążenie serca. W fazie postępującej przebudowy miokardium, serce przybiera kulisty kształt, dochodzi do ścieńczenia ścian komory, powiększa się wymiar końcowo-rozkurczowy lewej komory. Zgodnie z prawem Laplace'a (rola czynników mechanicznych) następuje wzrost naprężenia miokardium, co zdecydowanie zwiększa zapotrzebowanie tlenowe mięśnia sercowego, przy jednoczesnym zmniejszeniu rezerwy wieńcowej. Nadmierna odruchowa aktywacja neurohormonalna układu współczulnego i RAA zwiększa obciążenie następne, dochodzi do skrócenia długości trwania fazy rozkurczu, co dalej pogarsza warunki perfuzji i konsekwentnie zwiększa wydatek energetyczny. Stan zaburzonej perfuzji wieńcowej przekłada się na zaburzenia obiegu wewnątrzkomórkowego wapnia, zaburzenia metabolizmu ATP i fosfokreatyniny, co doprowadza do apoptozy komórek serca, oraz destrukcji macierzy międzykomórkowej.

Dualistyczna koncepcja patogenezy rozwoju niewydolności serca ma swoje potwierdzenie w obserwacji klinicznej. Leki których głównym celem jest poprawa

rzutu serca np. digoksyna, pomimo tego, że poprawiają komfort życia chorych, nie wpływają na zmniejszenie śmiertelności. Natomiast leki z grupy β -blokerów (metoprolol, bisoprolol, nebiwolol) i antagonistów szlaku RAA (np.: enalapryl, ramipril, spironolakton, eplerenon), które pomimo tego, że pozbawione są bezpośredniego wpływu na czynność hemodynamiczną lewej komory, modyfikują procesy remodelingu miokardium, poprzez wpływ na czynniki neurohormonalne, zwalniają, a niekiedy odwracają, niekorzystny postęp choroby w kierunku niewydolności serca. [3,6]

1.3.1. Rola układu RAA

Najważniejszymi szlakami odpowiedzi neurohumoralnej są układy adrenergiczne i oś renina-angiotensyna–aldosteron (RAA). Modyfikacja (tj. hamowanie) tych nadmiernie pobudzonych układów jest obecnie kluczowym elementem strategii leczenia przewlekłej niewydolności serca. Aktywacja układu RAA jest proporcjonalna do stopnia zaawansowania niewydolności serca. Efekty działania układu RAA, zauważalne są zarówno ogólnoustrojowo jak i na poziomie tkankowym.

W skład układu RAA wchodzi:

- Angiotensynogen – białko produkowane w wątrobie.
- Renina – peptydaza wytwarzana w aparacie przykłębuszkowym nerki. Celem działania reniny jest przekształcenie angiotensynogenu w angiotensynę I. Nerkowa produkcja reniny odpowiada za aktywność osoczową układu RAA. Produkcja reniny stymulowana jest przez spadek ciśnienia w tętnicy nerkowej, obniżenie stężenia sodu i chlorku w okolicy plamki gęstej i pobudzenie receptora adrenergicznego w aparacie przykłębuszkowym. Hamowana jest natomiast poprzez pobudzenie receptora AT1 przez angiotensynę II.
- Enzym konwertujący angiotensynę I w angiotensynę II (konwertaza angiotensyny – ACE). ACE występuje w śródbłonku naczyń, a jego największa aktywność stwierdzana jest w naczyniach płucnych. Warto zwrócić uwagę na alternatywną drogę powstawania angiotensyny II zwaną szlakiem chymazowym.
- Angiotensyna II – substancja białkowa, która jest jednym z najsilniejszych wazokonstryktorów. Angiotensyna II reguluje również homeostazę wodno-elektrolitową organizmu, zatrzymując w organizmie wodę i jony sodu, pobudza

współczulny układ nerwowy oraz stymuluje biosyntezę hormonów nadnerczowych. Efekt działania zależny jest od obecności receptorów AT1 i AT2. Ostatecznie efekt działania angiotensyny II wyraża się wzrostem pojemności minutowej, wzrostem całkowitego oporu naczyniowego i ciśnienia krwi.

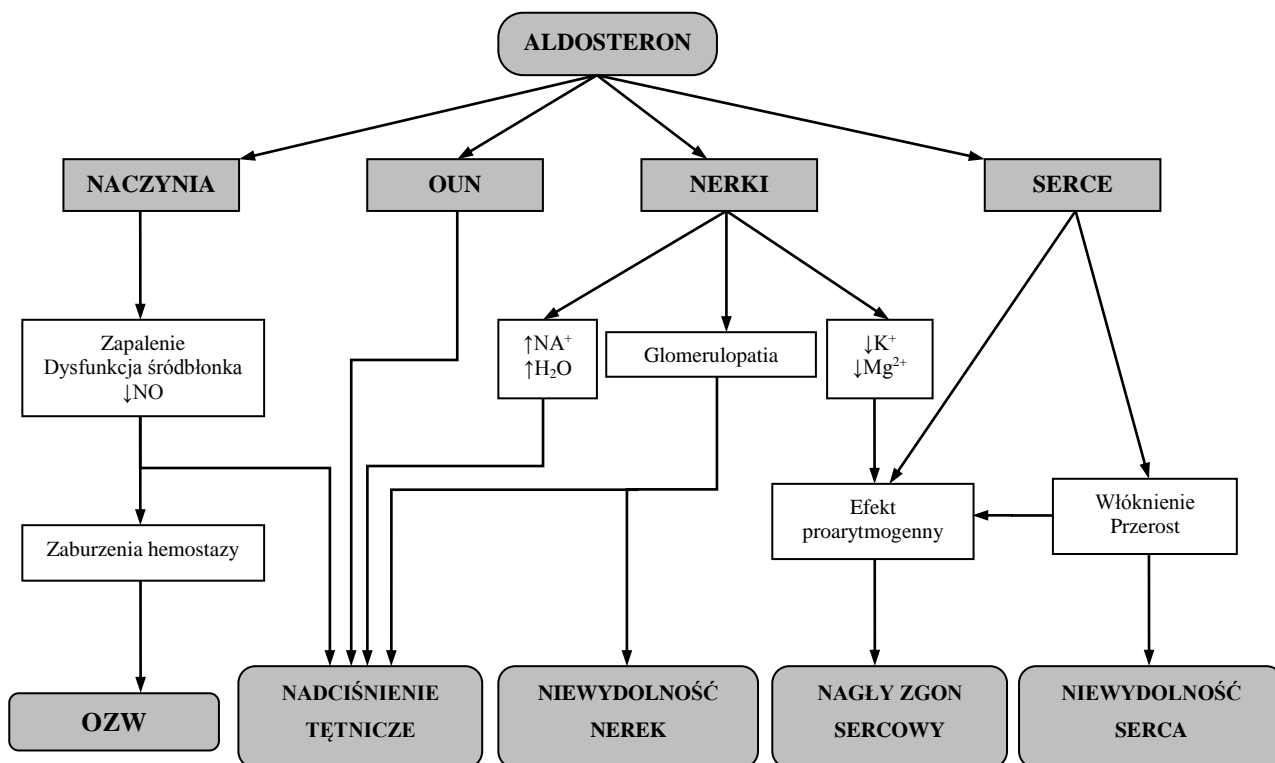
- Aldosteron, który jest hormonem nadnerczowym produkowanym dzięki stymulacji receptora AT1 przez angiotensynę II. [1,7,9]

1.3.2. Ogólnoustrojowy i tkankowy wpływ działania aldosteronu

W warunkach fizjologicznych, zwiększenie syntezy nadnerczowego aldosteronu następuje w wyniku zmniejszenia objętości krążącej krwi. Wytwarzanie aldosteronu stymulowane jest także przez wysokie stężenia potasu oraz wzrost stężenia ACTH. [8]

Głównymi inhibitorami syntezy aldosteronu jest przedsiorkowy peptyd natiuretyczny, dopamina, somatostatyna i tlenek azotu. [1,7] Działanie swoje realizuje poprzez pobudzanie receptora mineralokortykoidowego w części dalszej kanalika nerkowego i cewce zbiorczej. Aldosteron odpowiada za zwrotne wchłanianie jonów sodu i wydalanie potasu i magnezu. Aldosteron działa więc synergicznie z angiotensyną II w zakresie homeostazy wodno-elektrolitowej, wpływając na wzrost pojemności minutowej i ciśnienia tętniczego. Poza wytwarzaniem ogólnoustrojowym aldosteronu, istnieje również pula aldosteronu tkankowego, identyfikowanego w komórkach serca, naczyń oraz w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN).

W kardiomiocytach wykryto obecność transkryptów genów niezbędnych do syntezy aldosteronu (tj. CYP11A1, CYP21A, 3 β -HSD typ 2), niektóre z nich – CYP11B2, wykryto jedynie w sercach płodowych i w kardiomiocytach serca niewydolnego, co może odpowiadać za uruchomienie procesu przerostu komórek. [10,11] Zwiększenie tkankowego stężenia aldosteronu nasila produkcję czynnika jądrowego NF – κ B, łańcucha sygnałów AP-1, produkcję cytokin oraz czynników wzrostu w tym m.in. czynnika transformacji wzrostu β 1. Uruchomienie ww. czynników może stać się przyczyną zapalnego uszkodzenia naczyń [13], włóknienia śródmiąższowego [14] i zwiększenia masy mięśnia sercowego poprzez przerost kardiomiocytów. [10,11,15]



Ryc. 2. Rola aldosteronu w regulacji hormonalnej ogólnoustrojowej oraz jego działanie parakryne.

1.3.3. Rola aldosteronu w niewydolności serca

Zwiększona produkcja aldosteronu w niewydolności serca, zarówno nadnerczowego i tkankowego, odgrywa istotną rolę w przebudowie serca. W pierwszej fazie „nadprodukcja” aldosteronu jest odpowiedzią adaptacyjną na uszkodzenie mięśnia sercowego. Zwiększenie retencji płynów utrzymuje optymalną pojemność minutową, na poziomie tkankowym przyspiesza gojenie poprzez tworzenie blizny. [16]

W dalszej kolejności brak fizjologicznej modulacji produkcji aldosteronu doprowadza do nadmiernej proliferacji fibroblastów oraz produkcji kolagenu, co doprowadza do usztywnienia ściany lewej komory, dysfunkcji rozkurczowej, zmniejszonej podatności przedsionków, co pogarsza napełnianie lewej komory. Procesy włóknienia w obrębie miokardium pogarszają perfuzję na poziomie mikrokrążenia, zapoczątkowując tym samym procesy apoptozy i nekrozy, co implikuje zwiększone ryzyko zaburzeń rytmu serca, w tym również nagłego zgonu sercowego. [17]

Według Swedberga i wsp., [18] wysoki poziom osoczowego aldosteronu koreluje z pogarszającą się wydolnością serca i zwiększoną śmiertelnością. Udział puli tkankowego (sercowego) aldosteronu w stężeniu osoczym jest jednak nieistotny, co wynika z auto i parakrynnego działania aldosteronu. [12,29] Nie zmniejsza jednak to jego negatywnej roli w procesie remodelingu serca, co wykazali Mizuno i wsp. oraz Yoshimura, udowadniając istotnie większe stężenie aldosteronu i syntazy aldosteronu w niewydolnym sercu. [20,29] Stężenie aldosteronu ulega zmniejszeniu pod wpływem leczenia ACEI. Jednak po kilkumiesięcznej terapii inhibitorami ACEI może dojść do ponownego wzrostu stężenia aldosteronu, co nazwano terminem „ucieczki aldosteronu”. [19] Znane są trzy główne mechanizmy odpowiedzialne za to zjawisko: produkcja angiotensyny II szlakami niezależnymi od ACE (szlaki chymazowe, katepsyna G, CAGE), zbyt mała inhibicja ACE spowodowana nieodpowiednimi dawkami ACEI oraz synteza aldosteronu szlakami alternatywnymi niezależnymi od angiotensyny II. [7,16]

1.3.4. Kliniczne zastosowanie antagonistów aldosteronu

Poznanie szlaków działania aldosteronu i jego udziałów w patomechanizmie rozwoju niewydolności serca spowodowało, że rola antagonistów aldosteronu w terapii jest ugruntowana. Zarówno europejskie jak i amerykańskie towarzystwa kardiologiczne zalecają włączenie tej grupy leków, obok ACE i β -blokerów, do terapii przewlekłej niewydolności serca u pacjentów w klasie II-IV z LVEF $\leq 35\%$, lub LVEF $\leq 40\%$, u pacjentów którzy niedawno przebyli zawał serca i mają kliniczne objawy niewydolności serca lub cukrzycę. [1,3,6] Skuteczność leczenia potwierdzają badania kliniczne RALES, EPHESUS i EMPHASIS-HF.

W badaniu RALES, udowodniono zasadność włączenia antagonistów aldosteronu w grupie chorych z ciężką dysfunkcją skurczową lewej komory (EF $\leq 35\%$) w klasie NYHA III. Po 2 latach obserwacji uzyskano zmniejszenie bezwzględnego ryzyka zgonu o 30%. [3] Badanie EMPHASIS-HF odbyło się na grupie chorych ze skurczową niewydolnością serca z łagodnymi objawami. Po włączeniu enplerenonu w dawce 50mg, uzyskano zmniejszenie bezwzględnego ryzyka (chorobowość, śmiertelność) o 7,7%, co oznacza, że włączenie tego leku u 13 pacjentów zapobiegnie wystąpieniu zgonu u 1 chorego. W grupie chorych uczestniczących w badaniu EPHESUS udowodniono natomiast skuteczność włączenia enplerenonu we wczesnej

fazie zawału serca powikłanego niewydolnością serca. Grupa badanych obejmowała chorych z łagodnie upośledzoną funkcją skurczową lewej komory $LVEF \leq 40\%$, z objawami niewydolności serca NYHA \geq II lub z cukrzycą. Okazało się, że włączenie eplerenonu we wczesnej fazie zawału tj. między 3-7 dniem, powoduje zmniejszenie ryzyka bezwzględnego o 15%. [3,19]

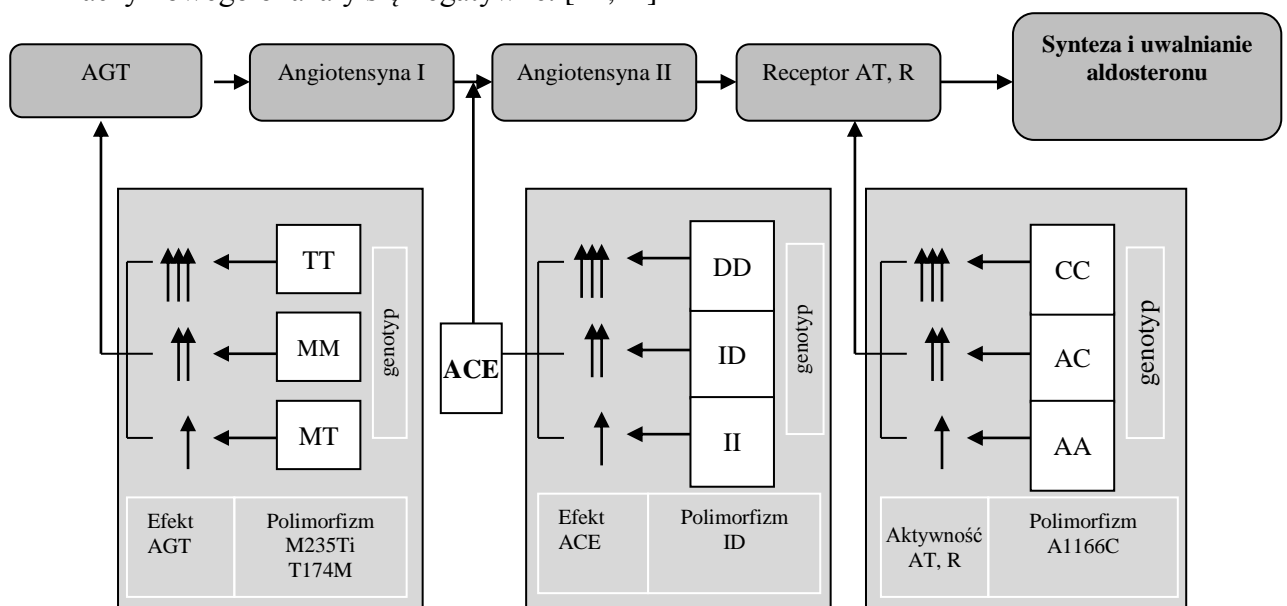
1.4. Znaczenie polimorfizmów genu angiotensynogenu w chorobach serca

Przez pojęcie polimorfizmu genu rozumie się różnice w sekwencji nukleotydów łańcucha DNA. Częstość występowania określonych sekwencji nukleotydów musi być większa od 1% populacji, w przeciwnym razie mówimy o mutacji. Polimorfizm genu dotyczyć może zarówno sekwencji kodujących i regulatorowych. Dzięki polimorfizmowi genów istnieje zmienność fenotypu kodowanego produktu. Zmiany struktury białka wpływają na jego funkcję i trwałość, a tym samym modyfikują rolę jaką pełni w organizmie. W ostatnich latach poświęcano dużo uwagi na ocenę polimorfizmów genów układu RAA i ich rolę w patogenezie chorób sercowo-naczyniowych i odpowiedzi na leczenie. W obrębie zainteresowania znajduje się:

- Polimorfizm genu ACE, zlokalizowany na 17 chromosomie – uważa się, że u homozygot DD występuje najwyższe stężenie ACE, najniższe natomiast u homozygot II [21]. Obecność allelu DD zwiększa ryzyko wystąpienia zawału serca i pogarsza rokowanie po zawale serca. Istnieje nie do końca jasny związek z częstością występowania nadciśnienia tętniczego. [21]
- Polimorfizm genu kodującego receptor AT1 zlokalizowanego na chromosomie 3 nie jest do końca poznany. Istnieje hipoteza, że obecność allelu C polimorfizmu A11666C AT1R koreluje z wysokimi wartościami angiotensyny II. [22,23]
- Polimorfizm genu angiotensynogenu zlokalizowany na ramieniu długim chromosomu 1 – wyróżnia się dwa najlepiej poznane polimorfizmy M235T oraz T174M. Zmiany w miejscu 235 tyminy na cytozynę daje zamianę metioniny na treoninę, w miejscu 174 cytozyny na tyminę daje zamianę treoniny na metioninę. [21,24] Polimorfizm M235T (nosiciele allelu T) wpływa w sposób pośredni na stężenie angiotensynogenu. W połączeniu z innymi polimorfizmami zlokalizowanymi w promotorze genu, polegającymi na zamianie w pozycji 235 guaniny na adeninę (polimorfizm 6G>A),

nasila transkrypcję, a tym samym zwiększa stężenie osoczone angiotesynogenu. Zależność ta jest szczególnie zauważalna u kobiet. [21,24] Nosiciele allelu T w pozycji 235 (homozygoty TT) mają o 31% większe ryzyko wystąpienia nadciśnienia tętniczego w stosunku do genotypu MM. [25] W przypadku polimorfizmu w pozycji 174, zależność pomiędzy podwójną homozygotycznością TT, a ryzykiem rozwoju nadciśnienia tętniczego jest podobna i wynosi 29%. [26] Należy jednak zaznaczyć, że w badaniach populacyjnych nie stwierdzono różnic na poziomie istotności statystycznej, dotyczących wartości ciśnienia tętniczego pomiędzy genotypami. [26] Homozygotyczność TT dla pozycji 235 i 174 zwiększa także istotnie ryzyko rozwoju choroby wieńcowej. Dowiedziono, że genotyp TT zwiększa to ryzyko na poziomie 70% w stosunku do genotypu MM. [27] Podobne korelacje dla homozygot TT stwierdza się dla ryzyka występowania restenozy po PTCA. [21] Nie udowodniono natomiast, że polimorfizm genu angiotensynogenu ma wpływ na rozwój przerostu lewej komory w grupie chorych z rozpoznanym już nadciśnieniem tętniczym lub kardiomiopatią przerostową. [28]

- Polimorfizm genu syntazy aldosteronu zlokalizowany na ramieniu długim chromosomu 8. Gen odpowiedzialny za syntezę białka enzymu mitochondrialnego cytochromu P450 oznaczonego jako CY P1182. Zamiana tyminy na cytozynę powoduje powstanie alternatywnego allelu C, który znacząco zwiększa ekspresję genu, a tym samym nasila aktywność syntazy aldosteronu. Znaczenie kliniczne tych doniesień jest jednak niejednoznaczne. Próby korelacji polimorfizmu 344T/C z chorobami układu sercowo-naczyniowego okazały się negatywne. [21,24]



Ryc. 3. Genetycznie uwarunkowana regulacja szlaku RAA.

1.5. Ocena stężenia peptydów natiuretycznych w niewydolności serca

Peptydy natiuretyczne są prohormonami, wydzielanymi przez kardiomiocyty przedsionka – ANP oraz komory – BNP, które poprzez aktywację receptorów, odpowiednio A i B, działają przeciwstawnie do czynników antynatiuretycznych tj.: aldosteron, renina, wazopresyna, endotelina. [32,33] Zwiększenie natiurezy i diurezy nerkowej, rozszerzenie naczyń, hamowanie przerostu komórek mięśni gładkich i kardiomiocytów (działanie antymitogenne) to główne efekty działania peptydów natiuretycznych. [16,31] Uważa się, że BNP jest bardziej czułym i swoistym markerem uszkodzenia serca niż ANP, szczególnie wrażliwym na zwiększenie objętości komory i obciążenia ciśnieniowego. [32] Wysoka ujemna wartość predykcyjna dla rozpoznania niewydolności serca znalazła swoje uznanie w umieszczeniu oceny stężenia BNP w wytycznych ESC z 2012 r., jako jednego z głównych narzędzi w procesie diagnostycznym. [3,34] Wartości stężenia BNP poniżej wartości progowych dla BNP < 35pg/ml i NT- pro BNP < 125 pg/ml przy powolnym narastaniu objawów oraz BNP < 100pg/ml i NT- pro BNP < 300 pg/ml przy szybkim narastaniu objawów niewydolności serca, z dużym prawdopodobieństwem wyklucza obecność dysfunkcji skurczowej i rozkurczowej lewej komory. [1-4, 34]

Ocena stężeń BNP w trakcie terapii niewydolności serca pełni również rolę prognostyczną. Udowodniono narastanie stężenia BNP w trakcie dekompensacji niewydolności serca. Wg Dao i wsp, średnie wartości BNP w grupie pacjentów z HF NYHA I wynosiły 95pg/ml, dla NYHA II – 221pg/ml, w klasie NYHA III – 459pg/ml i NYHA IV – 1006pg/ml. [34] Odwrotną zależność obserwuje się u pacjentów skutecznie leczonych na niewydolność serca. Spadek BNP koreluje z poprawą kliniczną pacjentów, zmniejszeniem klasy niewydolności serca NYHA, a tym samym zmniejszeniem ponownych przyjęć do szpitala z powodu dekompensacji niewydolności serca oraz redukcją śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych. [30,35] Rola BNP w diagnostyce i ocenie skuteczności leczenia pacjentów z niewydolnością serca jest więc już mocno ugruntowana. Ocena stężenia BNP, pełni rolę zarówno badania przesiewowego jak i rokowniczego.

1.6. Badanie echokardiograficzne

Badanie echokardiograficzne jest podstawowym narzędziem do oceny niewydolności serca, zarówno na etapie rozpoznania jak i kontroli leczenia. Echokardiografia umożliwia ocenę zarówno anatomii jak i funkcji serca. Technika opiera się na analizie odbitych fal ultradźwiękowych o częstotliwości 2-5MHz, wysyłanych przez głowicę o właściwościach piezoelektrycznych. Głowica pełni funkcję nadawczą jak i odbiorczą. Analizie fali odbitej podlega zarówno czas powrotu fali, dzięki czemu możliwa jest ocena odległości oraz zmiana częstotliwości ech odbitych przez struktury będące w ruchu. Dzięki temu, zgodnie ze zjawiskiem Doplera, możliwa jest ocena prędkości struktur. [36] Standardowe projekcje, w których dokonuje się akwizycji obrazów, wykonywane są w projekcji przymostkowej długiej i krótkiej na wysokości podstawy serca, poziomie zastawki mitralnej, osi krótkiej obu komór oraz projekcji koniuszkowych: 2-jamowej, 3-jamowej, 4- i 5-jamowej.

Badanie echokardiograficzne powinno być sprzężone z analizą EKG, które identyfikuje fazę skurczu (początek na ramieniu zstępującym załamka T) i rozkurczu serca (szczyt załamka R). Tradycyjne badanie echokardiograficzne umożliwia obrazowanie w trzech trybach: jednowymiarowym M-mode, dwuwymiarowym i doplerowskim (spektralny dopler przepływu zarówno pulsacyjny, ciągły i kolorowy oraz dopler tkankowy spektralny pulsacyjny i kolorowy). Ocena morfologii serca dotyczy wymiarów jam serca, grubości ścian, struktury zastawek, osierdzia. Analiza czynności serca obejmuje ocenę funkcji skurczowej i rozkurczowej lewej komory, czynności zastawek, funkcji prawej komory i ciśnienia w tętnicy płucnej.

Pomimo szerokiego i stosunkowo prostego zastosowania techniki echokardiografii przezklatkowej, należy pamiętać o tym, że jest ona czuła na warunki obrazowania i zależy od doświadczenia badającego.

Na jakość badania ma wpływ:

1. Właściwa pozycja i minimalne ruchy oddechowe badanego, co ma przełożenie na jakość wizualizacji.
2. Prawidłowa akwizycja obrazu – analiza prędkości oparta na zjawisku Doplera zależna jest od kąta padania wiązki. Przebieg wiązki ultradźwiękowej powinien być więc jak najbardziej równoległy do przepływu krwi.

3. Trudna wizualizacja pacjenta (pacjent hypoechogenny) – rola optymalizacji obrazu. Poprawa jakości akwizycji możliwa jest poprzez zmniejszenie głębokości obrazu, zwiększenie częstotliwości emitowanej fali, zmianę zakresu prędkości, zmniejszenie szerokości obrazu, poprawę wzmocnienia obrazu, koloryzację, harmoniczne obrazowanie, zwiększenie liczby prezentowanych na monitorze klatek >30/s, dobór filtrów. W przypadku złego obrazowania wsierdzia do rozważenia jest zastosowanie kontrastu. [38]
4. Zaburzenia rytmu serca (migotanie przedsionków, liczne pobudzenia dodatkowe) – należy unikać oceny parametrów po skurczach dodatkowych, które mają wpływ na zmianę objętości komory i skracanie włókien. [37]
5. Prawidłowa identyfikacja fazy późnoskurczowej i późnorozkurczowej - analiza EKG, ocena oparta na ruchu zastawki mitralnej i zmianie wymiarów komory. [37]

1.6.1. Ocena morfologii i funkcji skurczowej lewej komory

Trudno rozpocząć ocenę funkcji lewej komory bez wstępnej oceny jej morfologii. Ocena lewej komory powinna więc zawierać wymiar rozkurczowy i skurczowy lewej komory, grubości ścian, globalną i odcinkową kurczliwość, parametry doplerowskie.

Badanie wymiarów LV możliwe jest przy zastosowaniu techniki M-mode (jednowymiarowej), i 2D (dwuwymiarowej). Zaletą techniki M-mode jest lepsza rozdzielczość czasowa i możliwości różnicowania granicy miokardium z jednoczesną możliwością eliminacji nakładania się struktur dodatkowych, chociażby takich jak nici ścięgna. Natomiast ograniczeniem metody jest możliwość przeszacowania wyników, wynikająca z nieprawidłowego – skośnego ustawienia wskaźnika. Technika 2D daje lepsze możliwości pozycjonowania wskaźnika – od granic wsierdzia, opierając się o szczyty zastawki mitralnej. Jakość obrazu 2D zależy od typu aparatu. W starszych wersjach identyfikacja granicy wsierdzia możliwa była poprzez ocenę najsilniejszego echa. Aktualnie, dzięki technice harmonicznego obrazowania, możliwa jest identyfikacja rzeczywistej granicy wsierdzia. [38,39]

Wymiary lewej komory oceniane są w fazie:

- późnoskurczowej – klatka tuż przed otwarciem zastawki mitralnej lub w którym rozmiar LV jest najmniejszy.

- późnorozkurczowej – początek zespołu QRS, klatka tuż po zamknięciu zastawki mitralnej lub w którym rozmiar LV jest największy. [37,39]

Zakres wartości prawidłowych dla LV:

- LVEDd dla kobiet 3,9- 5,3 cm dla mężczyzn 4,2- 5,9 cm
- LVESd dla mężczyzn i kobiet: 2,0-3,4 cm [37]
- IVS i LVPW 0,6-1,0 cm. Przerost mięśnia rozpoznawany jest przy wartościach $\geq 1,1$ cm, przy czym istotne pogrubienie rozpoznawane jest przy wartościach $\geq 1,6$ cm. W sytuacji remodelingu LV dochodzi po zwiększenia ww. parametrów, wtórnie także objętości LV oraz jej geometrii z elipsoidalnej na sferyczną (kulistą). [40]

1.6.2. Ocena frakcji wyrzutowej

Ocena funkcji skurczowej lewej komory sprowadza się najczęściej do wyznaczenia frakcji wyrzutowej - LVEF. Frakcja wyrzutowa jest pochodną oceny objętości skurczowej i rozkurczowej LV. Dzięki wielu badaniom klinicznym stała się dobrym i szeroko stosowanym narzędziem prognostycznym w ocenie funkcji LV.

Frakcja wyrzutowa LV wyliczana jest wg wzoru:

$$[(LVEDV - LVESV) / LVEDV] \times 100\%$$

Norma dla wyliczonej frakcji wyrzutowej wynosi 55-80%. W przypadku chorych z niewydolnością serca, punkt odcięcia dla rozpoznawania dysfunkcji skurczowej LV wynosi 45%. [37,41,42] Umiarkowane upośledzenie funkcji skurczowej LV rozpoznaje się w przedziale 30-44%, ciężkie natomiast w zakresie $< 30\%$. [37, 44]

Obliczanie frakcji wyrzutowej uległo w dzisiejszych czasach automatyzacji. Obliczanie parametru polega na obróbce matematycznej zsumowanych objętości. Najczęściej stosowana jest metoda Simpsona, polegająca na odręcznym obrysowaniu granic wsierdzia w projekcjach cztero i dwujamowej. W przypadku trudnych akwizycji, dopuszczalna jest alternatywnie projekcja pięciojamowa, lub analiza na podstawie jednej projekcji. [37,43,45] Dzięki analizie matematycznej, wyznaczone zostają wielokrotne, cząstkowe objętości – walce (zalecane 20), które następnie ulegają zliczeniu. [37,39,44] Wyliczona frakcja wyrzutowa metodą Simpsona dość dobrze koreluje z wynikami uzyskiwanymi techniką MR serca. [43]

Metoda czuła jest jednak na jakość uzyskiwanego obrazu. W przypadku pacjentów z tzw. trudnym oknem akustycznym np.: otyli, z rozpozną POCHP, leżący

na wznak, precyzyjne wyznaczenie granic wsierdzia często jest utrudnione. Najczęściej pomyłkowo wliczone zostają do jamy serca mięśnie brodawkowate oraz beleczkowanie lewej komory. Drugi błąd dotyczy precyzyjnego zobrazowania koniuszka lewej komory – istnieje tendencja do tzw. ścinania koniuszka. Wyznaczenie więc fałszywych granic jamy serca może zarówno zaniżyć lub zawyżyć objętość LV. Powstały w ten sposób błąd pomiaru, ulega następnie zwielokrotnieniu, co wynika ze wzoru używanego do obliczenia objętości: $V = \pi r^2 h$, gdzie r oznacza promień, h wysokość walca. Jeśli weźmie się pod uwagę ww. ograniczenia, to nie jest zaskakujące, że trudno uzyskać satysfakcjonującą powtarzalność wyniku pomiędzy dwoma badaczami, a nawet dla jednego badacza. [39] Poprawę w zakresie precyzji w wyznaczaniu granic wsierdzia, a tym samym oceny frakcji wyrzutowej, wnosi echokardiografia kontrastowa, która jest aktualnie wskazana jeśli obrazowaniu podlega mniej niż 80% wsierdzia, oraz technika 3D. Nie są to jednak techniki szeroko dostępne i w związku z tym rzadko stosowane. [3, 45, 46] Należy także pamiętać, że objętość lewej komory nie jest stała. Parametr ten zależy od wypełnienia łożyska naczyniowego, warunków obciążenia wstępnego i następczego, zaburzeń rytmu serca, czy też współistniejących wad zastawkowych. Należy zwrócić również uwagę, że frakcja wyrzutowa ocenia jedynie mechanistycznie kurczliwość lewej komory.

W niektórych sytuacjach klinicznych może istnieć rozbieżność pomiędzy wartościami frakcji wyrzutowej, a faktyczną objętością wyrzutową (SV) np.: istotna hemodynamicznie niedomykalność mitralna, która pomniejsza objętość wyrzutową o objętość fali zwrotnej. Z kolei duża objętość końcowo-rozkurczowa może zapewniać wystarczającą SV pomimo obniżonej EF. Ocena EF powinna więc być analizowana z uwzględnieniem danych klinicznych.

1.6.3. Odcinkowa kurczliwość lewej komory

Zgodnie z zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego z 2006 r. zaleca się podział na 17 segmentów, szczególnie w przypadku badań oceniających perfuzję mięśnia sercowego. Ocena 17 segmentów nawiązuje przez analogię do opisów badań tomograficznych i rezonansu magnetycznego. [48] Każdy segment podlega ocenie pod względem ruchu i grubienia. Stosuje się 5-stopniową skalę oceny: 1 – normokineza, 2 – hipokineza, 3 – akineza, 4 – dyskineza, 5 – tętniakowate poszerzenie. Następnie zlicza się punkty przyznane każdemu segmentowi, a następnie dzieli się

przez 17, uzyskując tym samym WMSI. Prawidłowy wynik WMSI wynosi więc 1, im większa punktacja, tym większe odchylenia w zakresie zaburzeń kurczliwości lewej komory. WMSI lepiej koresponduje z rozległością pozawałowych uszkodzeń niż EF, ponieważ frakcja wyrzutowa może ulec poprawie w przypadku kompensacyjnego przerostu nieuszkodzonych, hiperkinetycznych segmentów lub występowania istotnej hemodynamicznie niedomykalności mitralnej. [49]

Metoda WMSI ma jednak swoje ograniczenia. Jest niezmiernie czuła na dobrą wizualizację wsierdza, zależna od okna akustycznego pacjenta i technicznych umiejętności badacza. Ocena WMSI może być jednak obarczona błędem, co zdarza się w przypadku biernie pociąganych, akinetycznych segmentów, lub też w sytuacji występowania ogłuszenia segmentów miokardium.

1.7. Nowe spojrzenie na funkcję lewej komory

Tradycyjne metody oceny funkcji skurczowej lewej komory oparte w głównej mierze na ocenie frakcji wyrzutowej, analizującej jedynie zmianę objętości lewej komory, nie oddają wszystkich aspektów złożoności ruchu miokardium. Nowoczesne spojrzenie na funkcję lewej komory dotyczy całej mechaniki mięśnia sercowego, co jest konsekwencją helikalnej budowy miokardium (podwójnej helisy, spirali). [55, 56]

Mięsień sercowy składa się z trzech warstw włókien: zewnętrznej – skośnej, środkowej – okrężnej i wewnętrznej – podłużnej. Warstwa zewnętrzna wspólna jest dla obu komór. Włókna tej warstwy biegną skośnie ku dołowi i na lewo (lewoskrętna helisa), na koniuszku serca wnikają w głąb tworząc wir, a następnie powracają ku podstawie serca jako warstwa podłużna wewnętrzna (prawoskrętna helisa). Włókna warstwy wewnętrznej skrócone są w stronę przeciwną do warstwy zewnętrznej. Warstwa okrężna jest zdecydowanie bardziej rozbudowana w zakresie przegrody międzykomorowej lewej. Warstwowa budowa lewej komory oraz sekwencyjne pobudzanie warstw włókien do skurczu, warunkuje ruch miokardium w trzech kierunkach: radialnym czyli dośrodkowym, podłużnym i okrężnym. W pierwszej fazie skurczu następuje zawężanie światła LV przez warstwę okrężną oraz ruch podstawy serca w kierunku dokoniuszkowym wywołany skurczem włókien zewnętrznych. Jednocześnie następuje skręcenie osi długiej komory, zgodnie z ruchem wskazówek zegara – rotacja związana ze skośnym przebiegiem włókien zewnętrznych. W kolejnej fazie skurczu następuje skrócenie włókien wewnętrznych, co powoduje ruch podstawy

serca ku górze i rotację lewej komory w kierunku przeciwnym do ruchów wskazówek zegara. Naprzemiennosc skracania warstw miokardium powoduje, że skurcz lewej komory nie polega jedynie na zawężaniu jej światła, ale jest procesem przestrzennym i dynamicznym, na który składa się grubienie, skracanie i rotacja – skręt. [53,56] Dotychczasowe parametry opisujące funkcję lewej komory nie są więc w stanie oddać wszystkich aspektów ruchu miokardium.

1.8. Zaawansowane techniki oceny odkształcenia i tempa odkształcenia miokardium

Techniki związane z analizą odkształcenia i tempa odkształcenia są krokiem w kierunku obiektywizacji oceny funkcji skurczowej lewej komory. Odkształcenie (strain ϵ) rozumiane jest jako zmiana odległości pomiędzy stałymi punktami, w różnych cyklach pracy serca i wyrażane jest w procentach. Jeśli wymiar zmienia się o $\frac{1}{4}$ to odkształcenie wynosi 25%. W przypadku oddalania się punktów od siebie wartość odkształcenia jest dodatnia, w przypadku przybliżania, przyjmuje wartości ujemne. Tempo odkształcenia (SR, ang. strain rate) czyli szybkość narastania odkształcenia, rozumiana jest jako różnica prędkości analizowanych punktów, wyrażana jest jako odwrotność sekundy. [50-53] Twórcą tej techniki jest Heimdal, który w latach 90-tych opisał analizę matematyczną potrzebną do wykonania pomiarów odkształceń. [50]

Przewaga nowych technik nad tradycyjnymi to głównie możliwość oceny zarówno globalnej i odcinkowej funkcji lewej komory, z uwzględnieniem przestrzennego ruchu miokardium, uniezależnienie wyników badania od stopnia obciążenia miokardium i zaburzeń rytmu serca. Analiza odkształcenia i tempa odkształcenia możliwa jest przy zastosowaniu techniki doplera tkankowego znakowanego kolorem lub nowej techniki śledzenia markera akustycznego. W DTI oceniana jest prędkość miokardialna – wartości rzędu 2-30cm/s, która podlega następnie analizie matematycznej w celu oceny odkształcenia i tempa odkształcenia. [52,53] Analiza odkształcenia może dotyczyć poszczególnych segmentów lub może być przedstawiona jako średnia dla wszystkich segmentów odkształcenia globalnego. [53,59]

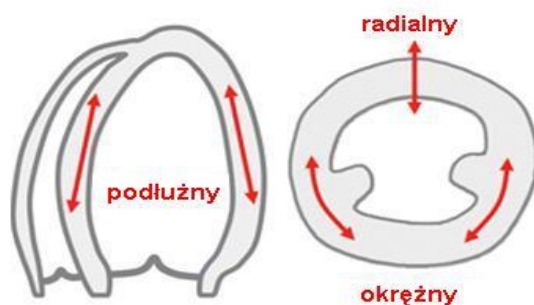
Metoda DTI niestety posiada pewne techniczne ograniczenia, wynikające głównie z zależności od kąta padania wiązki ultradźwięków. Możliwe są tylko pomiary odkształcenia w osi równoległej do padającej wiązki. Analiza zależna jest także od

obecności artefaktów z dodatkowych wektorów ruchu miokardium w kierunkach radialnych, okrężnych oraz niedostatecznej akwizycji i doświadczenia badającego. [51, 53] Cennym parametrem, dostępnym dzięki zjawisku Doplera pozostaje nadal ocena e' , ilorazu E/e' wyliczanych z ruchu wczesno-rozkurczowego pierścienia mitralnego. [3]

1.8.1. Metoda śledzenia markera akustycznego (STE ang. speckle tracking echocardiography)

Technika opiera się na założeniu, że obraz echokardiograficzny miokardium składa się ze zbioru plamek – markerów akustycznych, każdy z tych punktów porusza się w czasie i przestrzeni. Przesunięcie w przestrzeni markera akustycznego (piksela), śledzone jest przez oprogramowanie dzięki systemom filtrów, które izolują marker od interferencji z otoczenia. Przemieszczenie markera akustycznego przekształcane jest matematycznie i zapisywane jest przez oprogramowanie jako wektor. W kolejnym etapie oprogramowanie analizuje zebrane wektory i wylicza wskaźniki deformacji miokardium. [53] Ocena funkcji skurczowej i rozkurczowej możliwa jest zarówno dla poszczególnego segmentu jak i dla wartości globalnych. Analiza odkształceń metodą śledzenia plamki akustycznej ma już dobrze udokumentowaną jakość, porównywalną z wynikami pomiarów sonomikrometrycznych i techniki rezonansu magnetycznego. [51, 54]

Akwizycja obrazu odbywa się w technice 2D wysokiej rozdzielczości, wymaga rejestracji 40-80 klatek/sek. [53] W przypadku oceny odkształcenia podłużnego, technika AFI pozwala na częściową automatyzację pomiarów. Po wstępnym ręcznym ustaleniu obszaru obrazowania, program sam wyznacza granicę wsierdzia, co zwiększa powtarzalność, a tym samym jakość wyników. [53] Analiza padającej wiązki ultradźwiękowej nie zależy od kąta jej padania i możliwa jest w trzech kierunkach: podłużnym, poprzecznym – radialnym i okrężnym. [51,53,57] Dzięki temu możliwa jest dokładniejsza ocena funkcji poszczególnych warstw włókien lewej komory, zgodna z jej helikalną budową.



Ryc. 4. Rycina przedstawiająca ruch miokardium w trzech kierunkach podłużnym, radialnym oraz okrężnym.

1.8.2. Odkształcenie podłużne

Oceniane jest w projekcjach koniuszkowych. Odkształcenie podłużne odzwierciedla głównie czynność skurczową włókien podwiersdziowych. [53, 62, 63] Odkształcenia podłużne w zakresie ściany bocznej są większe niż przegrody. Istnieje także gradient wielkości od podstawy serca w kierunku koniuszka, z zaznaczeniem wyższych wartości odkształceń u podstawy. [53] Średnia wartość odkształcenia i tempa odkształcenia podłużnego w populacji zdrowych osób wynosi odpowiednio – 18,5%, $1.0/\text{sec}^{-1}$. [62] Wartości referencyjne odkształceń różnią się wśród wielu autorów publikacji. Wynika to głównie z obecności różnych oprogramowań jakimi oszacowywane są wartości odkształceń. [62, 63] Wartości deformacji podłużnej ulegają zmniejszeniu w przypadku koncentrycznego remodelingu, otyłości, co tłumaczone jest podwiersdziowym włóknieniem. [64,65]

Parametry deformacji podłużnej jako pierwsze ulegają również zmniejszeniu w przebiegu ostrego lub przewlekłego niedokrwienia, stąd coraz większa rola w ocenie żywotności mięśnia sercowego, rokowania pozawałowego. Istnieją prace udowadniające podobną dokładność diagnostyczną oceny odkształcenia podłużnego z oceną zaburzeń odcinkowej kurczliwości lewej komory, dokonywaną przez doświadczonego echokardiografistę. [60]

Warto także zwrócić uwagę na pracę Caracciolo i wsp., którzy udowodnili, że poprawa w zakresie parametrów odkształcenia podłużnego i okrężnego u pacjentów po

pierwszym w życiu zawale serca STEMI, leczonych skutecznie PTCA, ma silną wartość predykcijną poprawy funkcji serca. [61] W przypadku globalnego odkształcenia podłużnego, LGS (ang. longitudinal global strain) $< -15,1\%$ śmiertelność w trzyletnim okresie obserwacji wynosi 6%, natomiast u pacjentów z $LGS \geq -15\%$, wynosi 15%. Uważa się także, że $LGS \geq -12\%$ odpowiada $EF \leq 35\%$. [67] Obniżone wartości odkształcenia i tempa odkształcenia podłużnego mierzone u pacjentów po zawale pełnościennym serca, korelują z pięciokrotnie zwiększoną śmiertelnością z jakiegokolwiek przyczyny oraz dwukrotnie zwiększonym ryzykiem ponownej hospitalizacji z powodu zawału serca i zaostrzenia niewydolności serca. [66,80]

1.8.3. Odkształcenie radialne

Grubienie ściany miokardium, czyli odkształcenie radialne, oceniane jest w projekcjach przymostkowych w osi krótkiej. Jest konsekwencją w 58% skracania włókien podłużnych, w 25% grubienia warstwy radialnej i w 17% skracania włókien zewnętrznych. [53,71] Najwyższe wartości odkształcenia występują w warstwie podwierzdiowej. [53] Średnie prawidłowe wartości odkształcenia radialnego (poprzedniego) wynoszą 39% [51,60], chociaż istnieją prace, które oceniają wartości prawidłowe na poziomie 60,7%. [62] Wartości odkształcenia radialnego, podobnie jak podłużnego, ulegają obniżeniu w przypadku zawału serca pełnościennego i podwierzdiowego. [61] Jednak czułość i specyficzność tego parametru jest mniejsza niż w przypadku oceny odkształcenia podłużnego. Uważa się, że parametry odkształceń radialnych nie różnicują tak dobrze rozmiaru uszkodzenia lewej komory jak odkształcenia okrężne i podłużne. [70]

1.8.4. Odkształcenie okrężne

Opisuje trzecią składową ruchu miokardium, oprócz grubienia – odkształcenie poprzeczne i skracania – odkształcenie podłużne. Podobnie jak odkształcenie radialne, oceniane jest w projekcjach przymostkowych w osi krótkiej. Jest wypadkową konkurencyjnego skracania warstwy włókien podwierzdiowych i podnaszczdiowych. Rola tego parametru jest najmniej przebadana. Zwraca się uwagę na fakt, że zawał serca zarówno pełnościenny jak i podwierzdiowy wpływa zdecydowanie na obniżenie wartości odkształcenia podłużnego, jednakże odkształcenie okrężne ulega obniżeniu

tylko w przypadku zawału pełnościennego. Wartości mniejsze niż -13.6% odkształcenia okrężnego identyfikują bliźnię pozawałową z równą dokładnością jak NMR. [68]

Prawidłowe, średnie wartości maksymalnego skurczowego odkształcenia wynoszą -23,2%. [51, 69]

1.8.5. Deformacja skrętna lewej komory

Ocena deformacji skrętnej lewej komory odzwierciedla globalną dynamikę ruchu miokardium i wydaje się, że najlepiej koreluje ze stanem klinicznym pacjenta. Trójwymiarowy ruch mięśnia sercowego powoduje przeciwną rotację podstawy i koniuszka. Podstawa serca rotuje zgodnie z ruchem wskazówek zegara, natomiast koniuszek rotuje w stronę przeciwną. W okresie rozkurczu dochodzi do gwałtownego „odkręcenia” (untwisting) lewej komory i wytworzenia siły ssącej, co powoduje napełnianie lewej komory. Faza rozkurczu serca nie jest więc biernym napełnianiem lewej komory przez napływającą krew z lewego przedsionka, która następuje po otwarciu zastawki mitralnej, ale dynamicznym procesem zależnym od funkcji lewej komory. [73]

Skręt lewej komory (twist) definiuje się jako różnicę późnoskurczowej rotacji na poziomie podstawy i koniuszka serca, wynik podawany jest w stopniach. Skręcenie (torsion) uwzględnia natomiast odległość pomiędzy podstawą a koniuszkiem i wyrażany jest w stopniach/centymetr. [53,72] Maksymalna wartość skręcenia lewej komory oceniana jest w okresie późnoskurczowym, tj. w momencie zamknięcia zastawki aortalnej. Do tej pory ocena deformacji skrętnej możliwa była jedynie przy zastosowaniu techniki NMR, uznanej jako złoty standard w ocenie deformacji skrętnej. [73] Wiele badań dotyczących rotacji i skrętu lewej komory z użyciem techniki STE udowadnia jej dużą wartość diagnostyczną i lepszą dostępność niż NMR. [73-75, 77, 78]

Wartości prawidłowe dla skrętu lewej komory wynoszą $7,7 \pm 3,5$ °, wyższe wartości występują w populacji zdrowych > 60rż $10,8 \pm 4,8$ °, co wiąże się ze stopniowo pogarszającą się z wiekiem rotacją koniuszka. Tym właśnie zjawiskiem tłumaczy się powstawanie dysfunkcji rozkurczowej (przy zachowanej funkcji skurczowej) lewej komory u starszych pacjentów. [53]

Wartość skrętu lewej komory zdecydowanie ulega obniżeniu w grupie z obniżoną frakcją wyrzutową oraz z przerostem ekscentrycznym lewej komory. [74]

Niskie wartości skrętu obserwowane są także u pacjentów po zawale serca z rozległymi zaburzeniami kurczliwości. [58,75] Udowodniono dodatnią korelację pomiędzy obniżaniem się frakcji wyrzutowej a pogarszaniem się skrętu lewej komory oraz dla wartości e' i ilorazu E/e' . [75]

Warto zaznaczyć, że pacjenci po zawale serca, ale z zachowaną funkcją skurczową lewej komory, nie prezentują obniżonych parametrów deformacji skrętnej. Wynika to z helikalnej budowy miokardium. Jeśli niedokrwienie mięśnia sercowego dotyczy jedynie warstw podwierzwiowych, to skręt lewej komory zostaje zachowany dzięki prawidłowej funkcji warstw zewnętrznych mięśni, obserwuje się także wówczas większą niż normalnie rotację koniuszka. Można więc wyciągnąć wnioski, że włókna zewnętrzne pełnią rolę kompensacyjną, utrzymując prawidłową wartość skrętu lewej komory, a tym samym prawidłową funkcję skurczową i rozkurczową lewej komory. W przypadku niedokrwienia obejmującego całą grubość ściany, obserwuje się pogorszenie rotacji na poziomie koniuszka, gorszą funkcję włókien zewnętrznych – pogorszenie się deformacji radialnej i okrężnej, a tym samym niższe wartości skrętu lewej komory. [75, 76]

Rotacja koniuszka jest więc czułym markerem dysfunkcji skurczowej lewej komory. W przypadku istnienia rozległych już uszkodzeń miokardium, wartość skrętu lewej komory warunkowana jest rotacją na poziomie segmentów podstawnych. Zjawisko to może tłumaczyć dlaczego obserwujemy poprawę rotacji na poziomie segmentów podstawnych, a tym samym skrętu lewej komory, u pacjentów u których włączono intensywną terapię niewydolności serca. [77]

2. CEL BADANIA

Celem badania była ocena odpowiedzi na włączenie do leczenia antagonisty aldosteronu u chorych ze skurczową niewydolnością serca, ze szczególnym uwzględnieniem roli polimorfizmów genu angiotensynogenu M235T i T174M i wyjściowego stężenia aldosteronu.

Podjęto próbę odpowiedzi na następujące pytania:

1. Jaki jest wpływ terapii spironolaktonem na funkcję skurczową miokardium i na stopień zaawansowania niewydolności serca w grupie pacjentów z łagodnymi i umiarkowanymi objawami?
2. Czy nowa technika obrazowania tj. technika śledzenia markera akustycznego, wykazuje wcześniejszą poprawę w zakresie funkcji miokardium w porównaniu z tradycyjnymi metodami oceny?
3. Czy obecność allelu TT w pozycji 174 i 235 genu angiotensynogenu odpowiada za statystycznie istotną różnicę w odpowiedzi na leczenie spironolaktonem?
4. Czy terapia spironolaktonem jest bezpieczna?

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Charakterystyka grupy

Do badania zostali włączeni chorzy z objawami niewydolności serca, ocenionej w skali NYHA na II lub III stopień, z obniżoną LVEF < 45%. Rekrutowano zarówno mężczyzn jak i kobiety, w różnym wieku. Warunkiem zakwalifikowania do badania była optymalna farmakoterapia niewydolności serca, w tym stosowanie już ACE I i/lub ARB. Pacjenci rekrutowani nie mogli otrzymywać antagonistów aldosteronu, w okresie 8 tygodni poprzedzających włączenie do badania.

Przyjęto następujące kryteria włączenia do badania:

1. Chorzy z objawami niewydolności serca ocenianymi w skali NYHA \geq II.
2. Obniżona frakcja wyrzutowa oceniona w badaniu echokardiograficznym przezklatkowym (EF \leq 45%).
3. Optymalne leczenie farmakologiczne niewydolności serca, w tym stosowanie już ACE I i/lub ARB.
4. Wyrażenie pisemnej zgody na udział w badaniu klinicznym oraz wykonanie badań genetycznych.

Ustalono następujące kryteria wyłączenia z badania:

1. Chorzy w okresie dekomensacji przewlekłej niewydolności serca.
2. Obecność niewydolności nerek z poziomem kreatyniny >2.5mg/dl (220mmol/l), GFR<30ml/min/m² lub obecność hiperpotasemii >5.5mmol/l w chwili włączenia do badania.
3. Stosowanie antagonistów aldosteronu w okresie 8 tygodni poprzedzających włączenie do badania.
4. Obecność istotnej hemodynamicznie wady zastawkowej, lub stan po zabiegowej korekcji wady.
5. Zabieg angioplastyki wieńcowej w okresie krótszym niż 3 miesiące poprzedzające włączenie do badania.

3.2. Schemat wizyt

W trakcie badania odbyły się trzy wizyty.

1. Pierwsza wizyta: w chwili włączenia.
2. Druga wizyta: po miesiącu.
3. Trzecia wizyta: po sześciu miesiącach.

W trakcie pierwszej wizyty wszyscy uczestnicy badania, po uzyskaniu wyczerpującej informacji, podpisali pisemną zgodę na udział w badaniu oraz wykonanie badania genetycznego. Szczegóły badania, w formie pisemnej, były wręczane każdemu uczestnikowi. Formularze zgody uczestnictwa w badaniu, wykonania badania genetycznego oraz informacja na temat badania została przedstawiona i zaaprobowana przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, Uchwała nr 389/12.

W trakcie każdej wizyty wykonane zostały: badanie podmiotowe i przedmiotowe, EKG spoczynkowe, test wysiłkowy na bieżni, badania laboratoryjne (morfologia, kreatynina, potas, NT- pro BNP), badanie echokardiograficzne (VIVID E9). Tylko w czasie pierwszej wizyty wykonano ocenę polimorfizmu M235T i T174M, ocenę stężenia aldosteronu oraz włączono spironolakton w dawce 25mg/dobę.

3.3. Wykonane badania

3.3.1. Badanie podmiotowe

W trakcie badania posługiwano się skalą punktową oceny indywidualnej zdolności do wysiłku (samopoczucia). Skala oceniała zdolność do wysiłku w zakresie od 0-10 punktów. W trakcie każdej wizyty zadawano pytania dotyczące tolerancji wysiłkowej. Wartość 0 oznaczała złe samopoczucie, skrajnie niską zdolność do nawet niewielkich wysiłków np. wstawanie z łóżka, własna toaleta, ubieranie się. 10 punktów oznaczało bardzo dobrą tolerancję wysiłku, pacjent był w stanie podbiec szybkim tempem pod górkę, z łatwością wchodzi na 4 piętro, nie odczuwając przy tym ani zadyszki, ani przyspieszonej pracy serca. W trakcie kolejnych wizyt, w zależności od tego czy odczuwał poprawę lub pogorszenie, punkty dodawał lub odejmował. W przypadku braku poprawy punktacja nie zmieniała się.

W trakcie wizyty badacz określał również kliniczną ocenę w skali NYHA.

3.3.2. Badanie przedmiotowe

Ocenie podlegała obecność obrzęków obwodowych oraz trzeszczeń nad polami płucnymi. W przypadku wykrycia ww. objawów w protokole badania przyznawano choremu 1 punkt. W przypadku braku odchyłeń przyznawano 0 punktów.

3.3.3. Próba wysiłkowa

Próbie wysiłkową wykonywano przy użyciu sprzętu firmy Margot Medical Cardio Perfect Workstation z bieżnią Trackmaster WA.C.P.W. 1. 5.0/TMX 425. Pacjenci informowani byli, żeby trzy godziny przed rozpoczęciem próby wysiłkowej nie palili papierosów, nie spożywali posiłków ani pili kawy czy herbaty. Przed próbą wysiłkową nie odstawiano pobieranych przez pacjentów β -blokerów. Ocena zdolności do wysiłku wykonywana była wg protokołu Bruce'a i zmodyfikowanego Bruce'a. W trakcie próby wysiłkowej czynność serca monitorowano elektrokardiograficznie. Przed i po zakończeniu próby oraz przy każdej zmianie obciążenia mierzono ciśnienie tętnicze. W interwałach trzyminutowych następowało zwiększanie obciążenia. Obciążenie regulowane było kątem nachylenia bieżni i szybkością jej przesuwu. Protokoły dobierane były indywidualnie do każdego pacjenta. W przypadku osób starszych lub pacjentów którzy w skali samopoczucia określali swoją zdolność do wysiłku <4 punktów, stosowano zmodyfikowany protokół Bruce'a. Dzięki temu możliwe było rozpoczęcie wysiłku od etapu zerowego (0% nachylenia). Nie wykonywano zmian protokołów pomiędzy kolejnymi wizytami. Pod uwagę brano czas trwania wysiłku, zdolność do wysiłku mierzoną jednostką MET, maksymalne ciśnienie skurczowe oraz maksymalną częstość rytmu serca. Próbę wysiłkową kończono w momencie pojawienia się uczucia zmęczenia, które w warunkach pozaszpitalnych spowodowałoby przerwanie wykonywanego przez pacjenta wysiłku np. spaceru.

Do analizy statystycznej wydolności wysiłkowej zastosowano iloczyn, ocenianych na szczycie wysiłku, następujących parametrów: MET, ciśnienie skurczowe, częstotliwość pracy serca, czas trwania wysiłku.

3.3.4. EKG

U każdego pacjenta wykonano standardowe dwunastoprowadzeniowe badanie elektrokardiograficzne, w którym oceniano prowadzący rytm serca, zaburzenia rytmu i przewodnictwa i obecność patologicznych załamków Q i zespołów QS.

3.4. Analiza laboratoryjna

Badania laboratoryjne każdorazowo wykonywano w certyfikowanym laboratorium ALAB (akredytacja wg normy PN-EN ISO 15189:2007) Szpitala Centrum Medyczne HCP im. św. Jana Pawła II w Poznaniu.

Badania genetyczne wykonywane były w Katedrze i Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego imienia Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

3.4.1. Morfologia krwi obwodowej oraz ocena stężenia potasu, kreatyniny i NT- pro BNP

Ocena morfologii krwi obwodowej wykonana została z krwi pełnej, pobranej z żyły odłokciowej na antykoagulant (EDTA, ethylenediaminetetraacetate), a następnie, metodą cytometrii przepływowej określono skład komórkowy. Analizę wykonano aparatem ABX Pentra DF 120. Analizę poziomu potasu, kreatyniny, NT- pro BNP w surowicy krwi wykonano metodą fotometrii aparatem Dimension EXL 200.

3.4.2. Ocena stężenia aldosteronu

Surowicę, z której wykonywano oznaczenie stężenia aldosteronu, pobierano w trakcie pierwszej wizyty. Pacjenci, przed pobraniem, proszeni byli o 15 min odpoczynku w pozycji siedzącej. Ocenę stężenia aldosteronu wykonywano metodą CLIA (The Clinical Laboratory Improvement Amenements) aparatem Liaison XL, firmy Diasorin. Wartości referencyjne aldosteronu 1,97-26 ng/dl.

3.4.3. Ocena polimorfizmów genu angiotensynogenu

DNA genomowe izolowano z 200 µl krwi obwodowej pobranej na EDTA, przy użyciu metody kolumnkowej na złożu krzemionkowym, za pomocą zestawu AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen Biosciences), zgodnie z protokołem załączonym przez producenta zestawu.

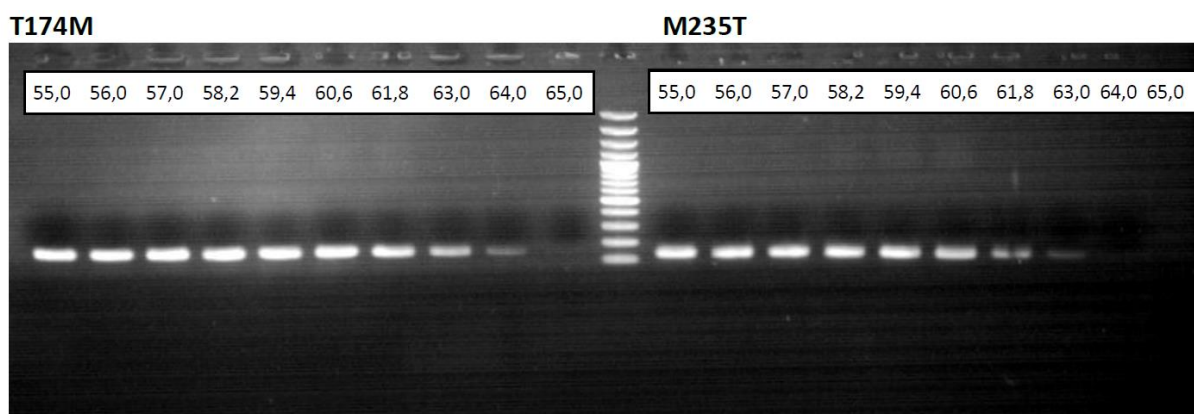
Stężenie DNA oznaczano na podstawie pomiaru spektrofotometrycznego przy długości fali 260 nm. Czystość oraz jakość preparatu oceniano na podstawie stosunku absorbancji A260/280 oraz A260/230.

Oba badane polimorfizmy: T174M (rs4762) i M235T (rs699) genotypowano za pomocą reakcji amplifikacji DNA w czasie rzeczywistym (Real-Time PCR) z analizą krzywych topnienia wysokiej rozdzielczości (High Resolution Melting, HRM).

Fragment sekwencji egzonu 2 genu AGT (o długości 151 pz), obejmujący miejsce polimorficzne T174M amplifikowano za pomocą pary specyficznych starterów: T174M-F 5'-TGGAAGGACAAGAAGTGC-3' i T174M-R 5'-CTGGGGCTGTGAACACG-3'.

Fragment egzonu 2 genu AGT (o długości 131 pz), w którym znajduje się miejsce polimorficzne M235T amplifikowano za pomocą pary specyficznych starterów: M235T-F 5'-CTGGATGTTGCTGCTGAG-3' oraz M235T-R 5'-TTACCTTGAAGTGGACG-3'.

Optymalny profil termiczny amplifikacji obu fragmentów genu AGT, w szczególności właściwą temperaturę przyłączania starterów (temperaturę annealingu), określono za pomocą klasycznej reakcji PCR z gradientem temperatury annealingu w zakresie 55-65°C. Produkty reakcji PCR rozdzielano elektroforetycznie w 2% żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydyny. Na podstawie obrazu rozdziału elektroforetycznego produktów obu reakcji PCR wybrano temperaturę annealingu równą 59°C.



Ryc. 5. Obraz elektroforetyczny produktów obu reakcji PCR

Reakcję Real-Time PCR oraz analizę HRM wykonano na płytkach 96-dółkowych za pomocą aparatu LightCycler 480 II (Roche Diagnostics) oraz zestawu odczynników dedykowanych przez producenta – LightCycler 480 High Resolution Melting Master. Zawarty w zestawie barwnik RezoLight uzyskuje zdolność do wzbudzenia i emisji zielonej fluorescencji po związaniu z dwuniciowym DNA, co umożliwia monitorowanie przebiegu amplifikacji i obserwację topnienia produktów reakcji.

Profil termiczny reakcji:

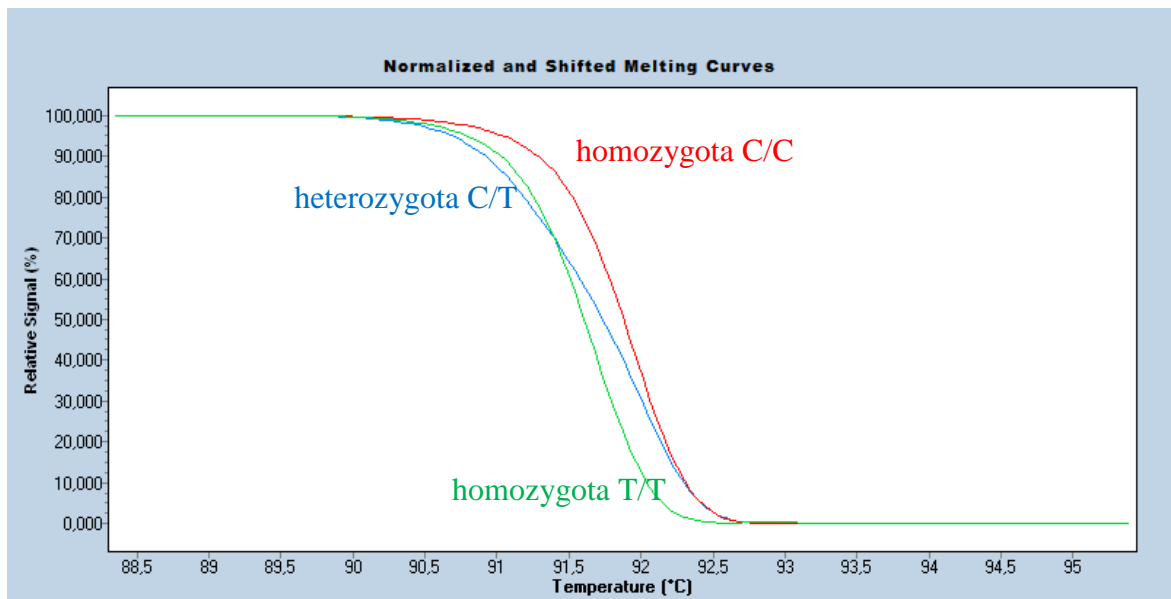
- Preinkubacja (aktywacja polimerazy DNA Hot-start) 95°C, 10 min.
- Amplifikacja (50 cykli):
- Denaturacja 95°C, 10 s
- Annealing 59°C, 10 s
- Elongacja 72°C, 10 s, pojedynczy pomiar fluorescencji.
- Analiza HRM
- 95°C, 1 min.
- 40°C, 1 min.
- 75°C-99°C (0,02°C/s), ciągły pomiar fluorescencji.
- Chłodzenie (40°C)

Skład mieszaniny reakcyjnej (objętość końcowa 10 µl):

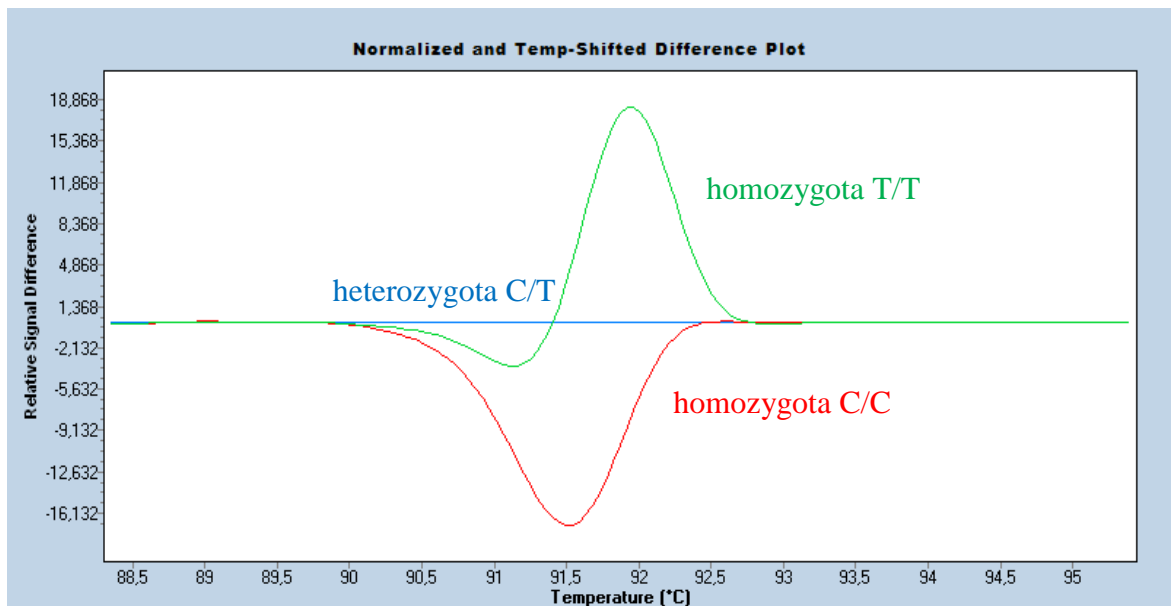
- | | |
|---|------|
| • LightCycler 480 High Resolution Melting Master (2×) | 5 µl |
| • MgCl ₂ (25 mM) | 1 µl |
| • Mieszanina starterów F+R (5 mM) | 1 µl |
| • DNA genomowe (≈ 40 ng/µl) | 1 µl |
| • Woda | 2µl |

Identyfikację poszczególnych genotypów dla obu polimorfizmów przeprowadzono na podstawie analizy kinetyki topnienia (kształtu krzywych topnienia oraz temperatury topnienia) produktów amplifikacji genu AGT przy pomocy modułu GeneScanning wchodzącego w skład oprogramowania LightCycler 480 Software 1.5 SP3, służącego do sterowania aparatem i analizy wyników.

Genotypowanie polimorfizmu T174M (przykład):

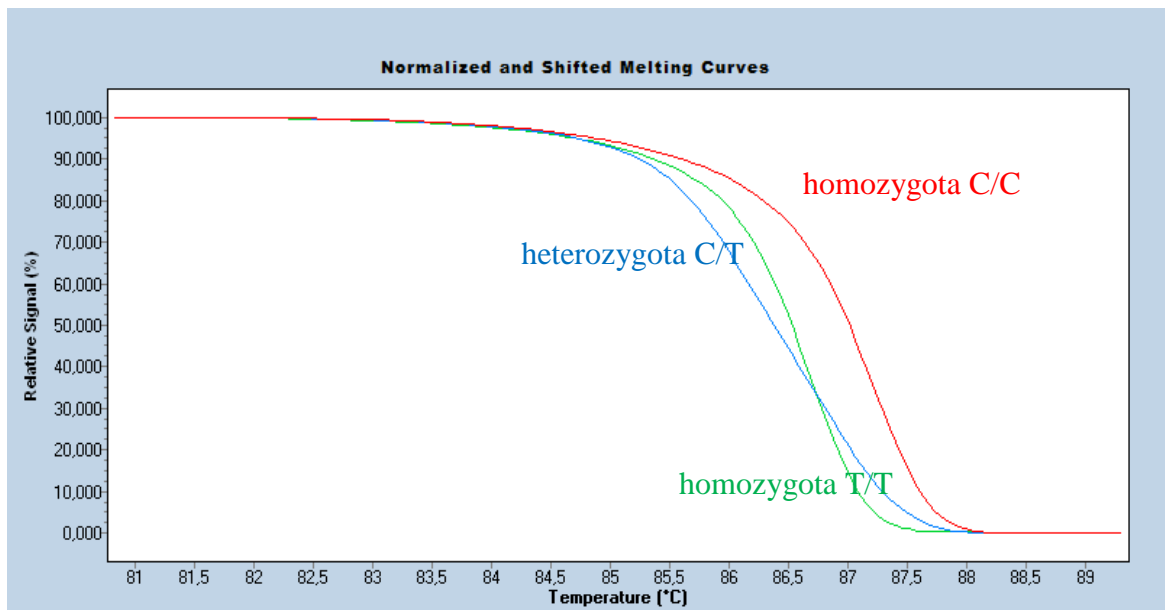


Ryc. 6. Krzywa topnienia produktów amplifikacji.

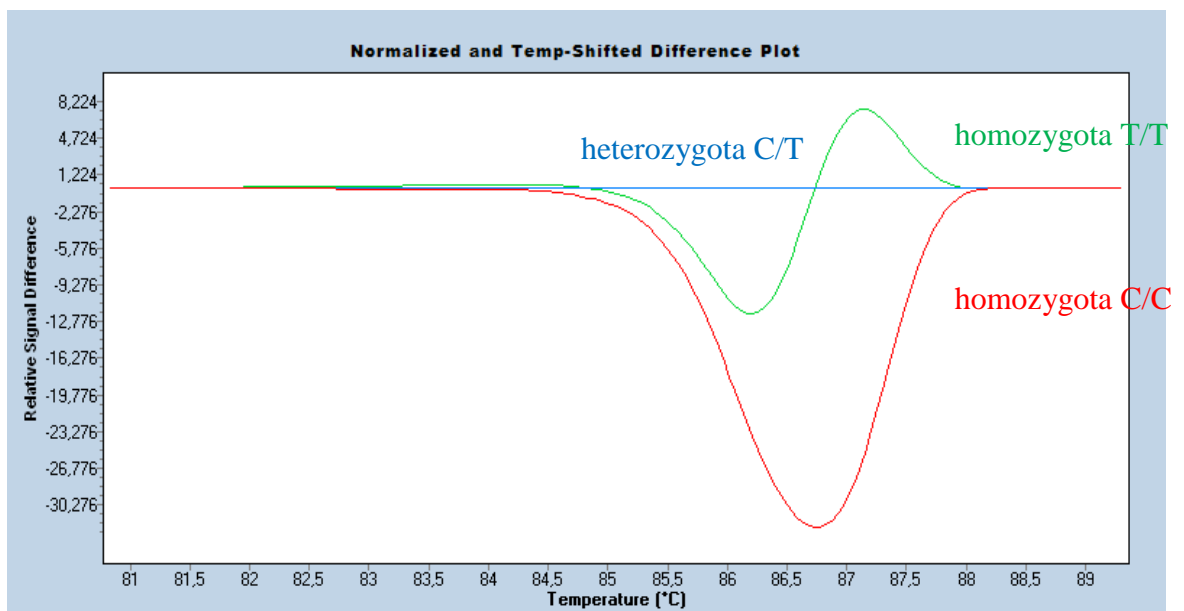


Ryc. 7. Wykres różnicowy rozkładu produktów topnienia.

Genotypowanie polimorfizmu M235T (przykład):



Ryc. 8. Krzywa topnienia produktów amplifikacji.



Ryc. 9. Wykres różnicowy rozkładu produktów topnienia.

3.5. Badanie echokardiograficzne

Badania wykonywane były przy użyciu echokardiografu Vivid E9 firmy GE z głowicą sektorową M5S-D. W trakcie obrazowania dokonywano jednoczesnej rejestracji EKG. Warunki obrazowania i technika oceny parametrów zgodna była z wytycznymi producenta EchoPac GE Healthcare. [87]

Obrazowanie serca wykonywano w trybie 2D w standardowych projekcjach:

1. Przymostkowej w osi długiej.
2. Przymostkowej w osi krótkiej na poziomie zastawki mitralnej (MV), mięśni brodawkowatych (PM) i koniuszka (AP).
3. Koniuszkowych 5-jamowej, 4 –jamowej, 3-jamowej i 2- jamowej.

W przypadku niezadawalającej akwizycji, dokonywano optymalizacji obrazu regulując głębokość, szerokość wiązki, wzmocnienie, skale szarości. Badanie wymagało utrzymania optymalnej rozdzielczości czasowej (FPS, ang. frame per second) średnio 50-60 klatek/sek. W przypadku tachykardii zwiększano liczbę klatek do 60-70/sek. Obrazy i pętle obrazowe archiwizowano na dysku echokardiografu. W celu dalszej analizy, eksportowano uprzednio zapisane pętle obrazowe do komputera zewnętrznego. Dalszą analizę wykonano przy użyciu dedykowanej stacji roboczej z oprogramowaniem EchoPac firmy GE Healthcare.

Badanie składało się z dwóch etapów:

- 1) Tradycyjna ocena echokardiograficzna:
 - a) ocena wymiarów jam serca – wykonywane przy zastosowaniu techniki 2D w fazie późnorozkurczowej
 - b) ocena napływu mitralnego za pomocą doplera fali pulsacyjnej (E/A),
 - c) ocena wczesnorozkurczowej prędkości ruchu przegrodowej części pierścienia mitralnego za pomocą doplera tkankowego (e`)
 - d) ocena frakcji wyrzutowej metodą Simpsona,
 - e) ocena kurczliwości odcinkowej lewej komory z wyliczeniem WMSI.
- 2) Ocena funkcji lewej komory techniką śledzenia markerów akustycznych:
 - a) ocena maksymalnego skurczowego odkształcenia podłużnego lewej komory wykonywana w projekcjach koniuszkowych (dwu, cztero i trój- jamowej odpowiednio 2CH, 4CH, 3CH). Globalne odkształcenie lewej komory wyliczane było automatycznie dzięki oprogramowaniu EchoPac firmy GE Healthcare.

Sposób pomiaru prezentują ryciny nr 10, 11.

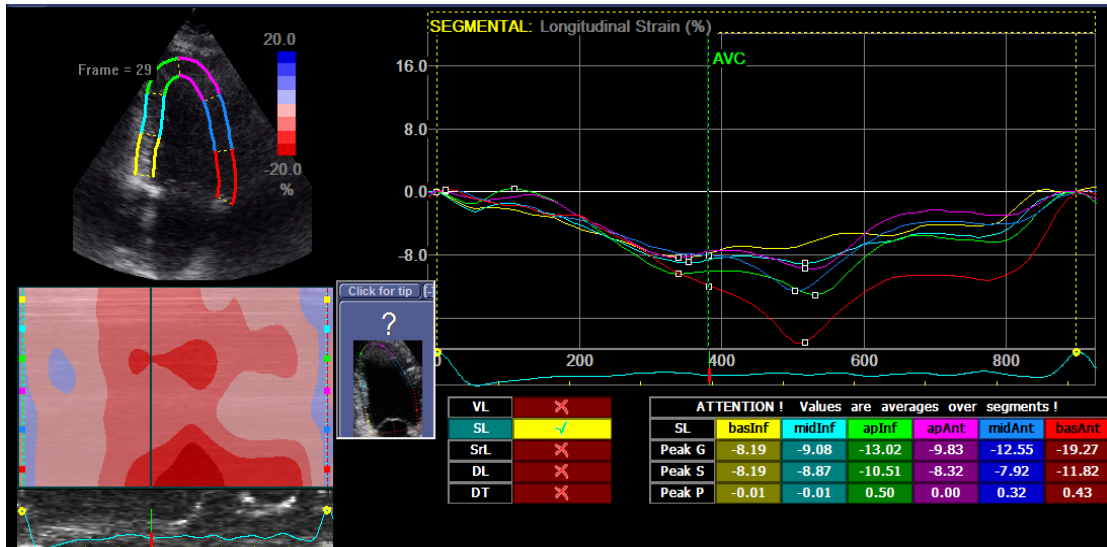
- b) ocena odkształcenia radialnego, okrężnego, rotacji i skrętu lewej komory wykonywana w projekcjach przymostkowych w osi krótkiej na poziomie zastawki mitralnej (MV-SAX), mięśni brodawkowatych (PM-SAX) oraz koniuszka (AP-SAX). Sposób pomiaru prezentują ryciny nr 12, 13, 14 oraz 15.

W pierwszym etapie analizy STE, na zatrzymanej klatce obrazu 2D w fazie późnoskurczowej, identyfikowanej momentem zamknięcia zastawki aortalnej (AVC), wyznaczano granice wsierdzia. W ten sposób wyznaczano obszar obrazowania (ROI). Następnie program śledził ruch markera akustycznego i w zależności od zadanego algorytmu wyliczał wartość odkształcenia. Wynik skurczowego odkształcenia prezentowany był przez oprogramowanie zarówno dla poszczególnych segmentów serca jak i dla całego miokardium, globalnie, jako wartość uśrednioną.

Odształcenie podłużne oceniane było techniką AFI, w której detekcja granic wsierdzia następowała automatycznie po uprzednim zaznaczeniu przez badacza segmentów podstawnych oraz koniuszka. W przypadku suboptymalnego śledzenia przez oprogramowanie markera akustycznego, ROI wyznaczał badacz.

W przypadku odkształcenia radialnego, okrężnego, rotacji i skrętu lewej komory nie było możliwe zastosowanie techniki AFI. Identyfikacja wsierdzia, a tym samym ROI, ustalana była przez badacza.

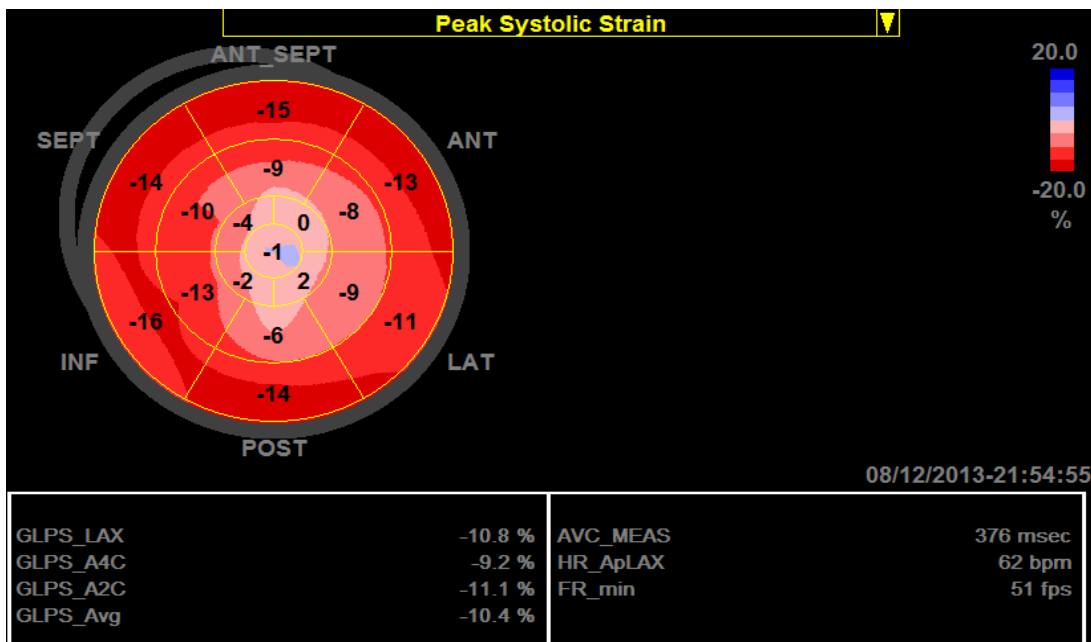
Należy zaznaczyć, że analiza wartości odkształceń okrężnych, radialnych i rotacji wykonywana dla była dla 18 segmentów miokardium, nie była więc spójna z obowiązującym i powszechnie stosowanym podziałem lewej komory na 17 segmentów. Podział ten stworzony został przez producenta oprogramowania EchoPac firmę GE Healthcare. [87] Każdy poziomy, podstawny, środkowy i koniuszkowy lewej komory zawierał sześć, analogicznych segmentów, nie wyszczególniono osobnego segmentu koniuszkowego. W przypadku odkształcenia podłużnego oprogramowanie utrzymywało standardowy podział lewej komory na 17 segmentów, możliwa była też przekrojowa prezentacja wyników w postaci tzw. Bull eye.



Ryc.10. Krzywe odkształcenia podłużnego, projekcja 4-jamowa.

*Analiza zapisanych obrazów na stacji roboczej z oprogramowaniem EchoPac firmy GE Healthcare.

** Kolor krzywych identyfikuje śledzony segment. AVC – czas zamknięcia zastawki aortalnej, identyfikujący maksymalne wartości.



Ryc.11. Wartości globalnego odkształcenia podłużnego dla 17 segmentów lewej komory prezentowane jako Bull eye.

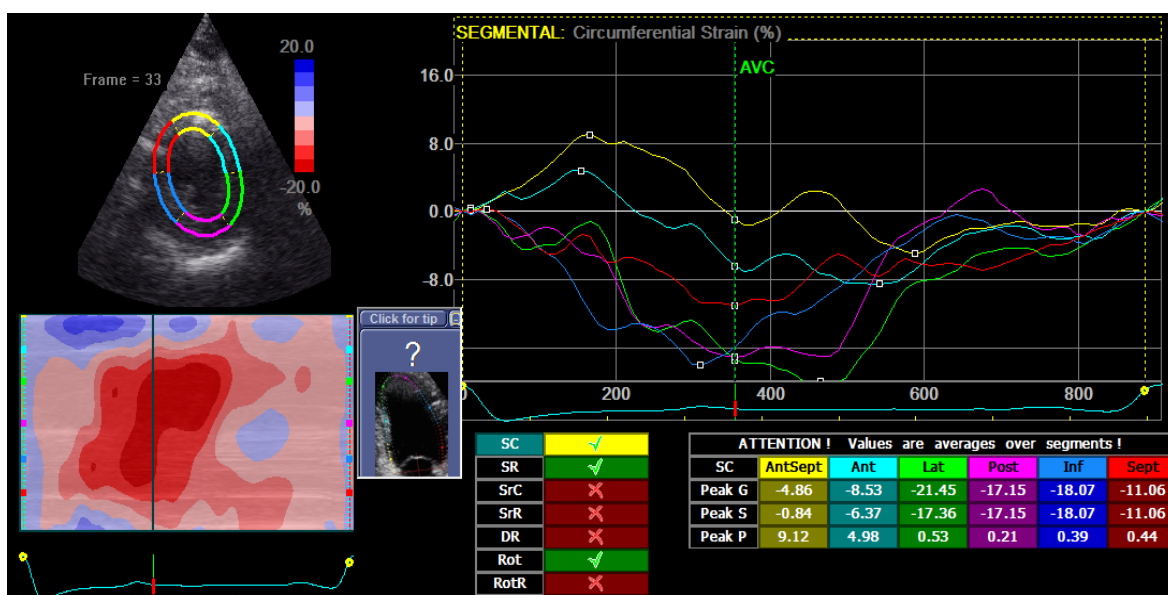
* Analiza zapisanych obrazów na stacji roboczej z oprogramowaniem EchoPac firmy GE Healthcare.



Ryc.12. Krzywe odkształcenia radialnego. Pomiar dla 6 segmentów na poziomie mięśni brodawkowatych.

* Analiza zapisanych obrazów na stacji roboczej z oprogramowaniem EchoPac firmy GE Healthcare.

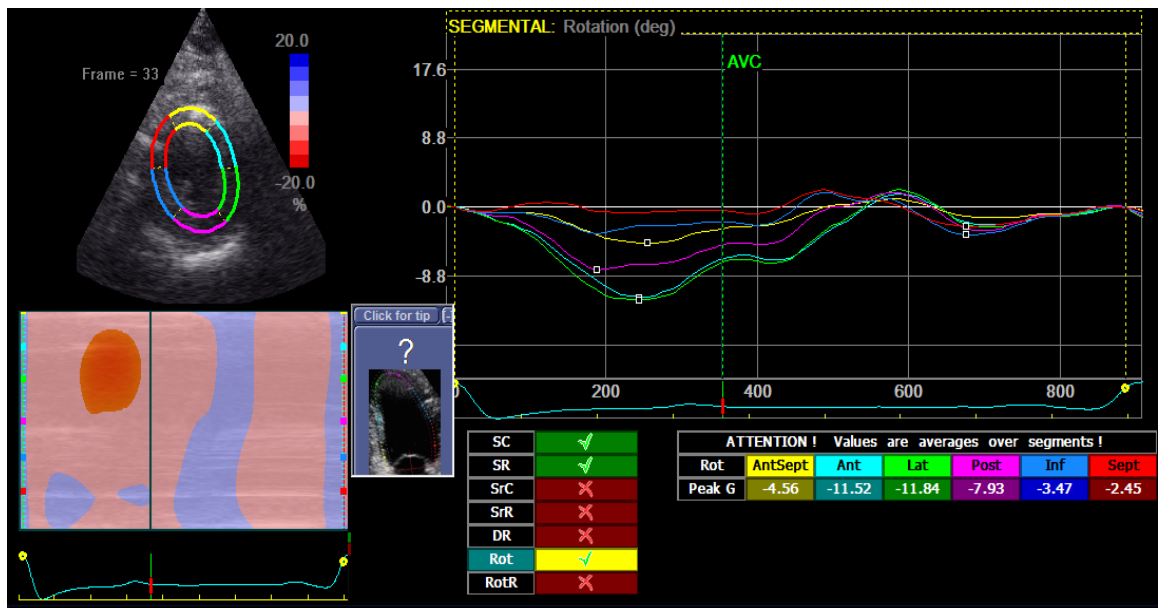
**Kolor krzywych identyfikuje śledzony segment. AVC – czas zamknięcia zastawki aortalnej, identyfikujący maksymalne wartości skurczowe odkształceń



Ryc. 13. Krzywe odkształcenia okrężnego. Pomiar dla 6 segmentów na poziomie mięśni brodawkowatych.

* Analiza zapisanych obrazów na stacji roboczej z oprogramowaniem EchoPac firmy GE Healthcare.

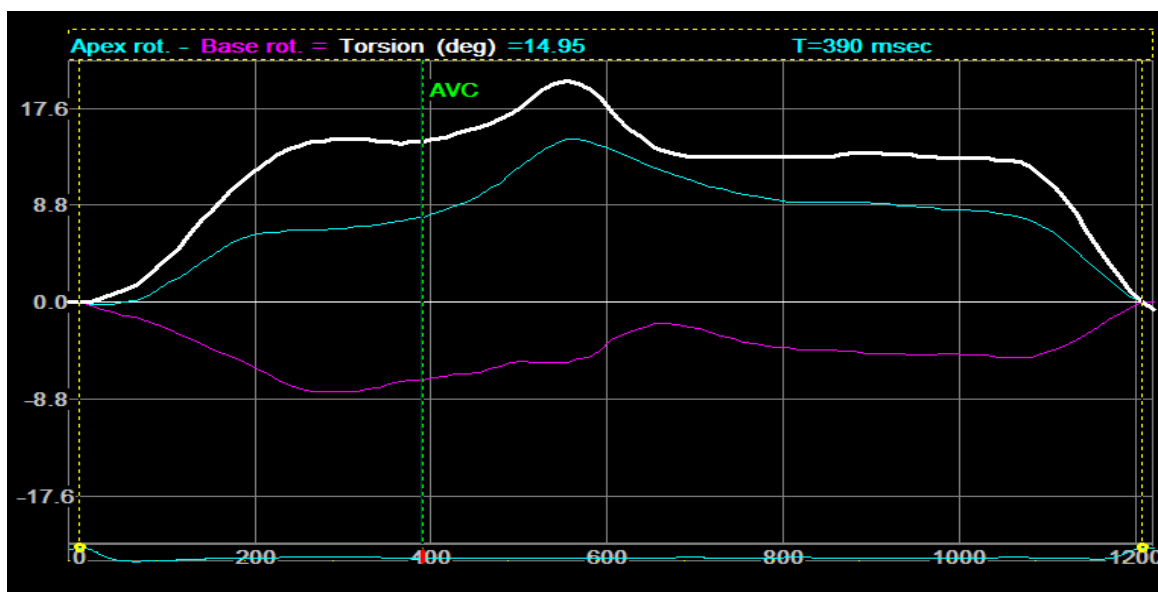
**Kolor krzywych identyfikuje śledzony segment. AVC – czas zamknięcia zastawki aortalnej, identyfikujący maksymalne wartości skurczowe odkształceń.



Ryc. 14. Ocena rotacji lewej komory. Pomiar dla 6 segmentów na poziomie podstawy serca.

* Analiza zapisanych obrazów na stacji roboczej z oprogramowaniem EchoPac firmy GE Healthcare.

**Kolor krzywych identyfikuje śledzony segment. AVC – czas zamknięcia zastawki aortalnej, identyfikujący maksymalne wartości skurczowe odkształceń.



Ryc. 15. Ocena skrętu lewej komory.

* Analiza zapisanych obrazów na stacji roboczej z oprogramowaniem EchoPac firmy GE Healthcare.

**Krzywa biała prezentuje wartości skręcenia lewej komory. Wartość wyliczana automatycznie przez oprogramowanie wg wzoru: maksymalna wartość skurczowa rotacji na poziomie koniuszka – maksymalna wartość skurczowa rotacji na poziomie podstawy. AVC – czas zamknięcia zastawki aortalnej, identyfikujący maksymalne wartości skurczowe odkształceń.

3.6. Analiza statystyczna

W niniejszej pracy obliczenia wykonano w programie Statistica 10.0. Znamienność wyników sprawdzano na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Testem ANOVA lub testem Friedmana wraz z ich testami post hoc odpowiednio Tukeya i Dunna sprawdzano różnice pomiędzy trzykrotnymi pomiarami dla zmiennych ilościowych, dla zmiennych dychotomicznych użyto testu Q Cochra. W badaniach użyto również analizy GLM – ogólnego modelu liniowego (generalized linear model) MANOVA dla powtórzonych pomiarów z czynnikiem w celu sprawdzenia różnicy pomiędzy kolejnymi pomiarami pod wpływem innych czynników.

4. WYNIKI

4.1. Opis grupy badanej

W czasie przeprowadzania badania, które trwało od 2012 do 2014 roku, zebrano grupę 39 pacjentów, w tym 11 (28,2%) kobiet oraz 28 (71,8%) mężczyzn. Średnia wieku wyniosła 64,3 lat. Do badania zostali włączeni chorzy z objawami skurczowej niewydolności serca (HF-REF), ocenionej w skali NYHA II – 29 chorych (74,4%) oraz NYHA III – 10 chorych (25,6%). Rekrutowani chorzy spełniali kryteria włączenia, w tym otrzymywali już optymalną farmakoterapię niewydolności. Wszyscy rekrutowani chorzy otrzymywali terapię β -blokerem, 35 chorych pobierało ACEI (89,7%), pozostali 4 pacjenci otrzymywali ARB (10,3%). 13 chorych (33,3%) stosowało diuretyki, nie wymagali oni jednak zwiększania dawkowania leku w trakcie trwania badania. U 26,0% badanych, w chwili rekrutacji do badania, rozpoznano otyłość (BMI >30).

Trzech chorych nie wykonało wszystkich planowanych wizyt. Jeden z nich zrezygnował z uczestnictwa w badaniu po pierwszej wizycie. Dwóch pacjentów zmarło w trakcie trwania badania. Przyczynami zgonu były powikłania zakrzepowo-zatorowe w przebiegu świeżo wykrytej choroby nowotworowej oraz powikłania zapalne po zabiegu operacyjnego leczenia niedrożności przewodu pokarmowego. W przypadku tych chorych, w analizie statycznej ujęto jedynie wyniki z wizyty pierwszej i drugiej.

Główną przyczyną niewydolności serca u badanych chorych była choroba niedokrwienna serca i nadciśnienie tętnicze. U ponad połowy badanych (26 chorych), w okresie 3 miesięcy przed włączeniem do badania, wykonano koronarografię. W przypadku 16 chorych (42,0%) wykonano zabieg angioplastyki: u 7 chorych – PCI PTW, u kolejnych 7 – GPZ, GLTW, u pozostałych 2 – GO/GM.

Analiza wywiadu chorobowego wykazała, że 15 chorych (38,5%) przeżyło zawał serca NSTEMI lub dusznicę bolesną niestabilną, 16 chorych (41,0%) przeżyło zawał serca STEMI ściany przedniej, 8 chorych (20,5%) natomiast zawał STEMI ściany dolnej lub dolno-bocznej.

W rekrutowanej grupie chorych, u prawie połowy badanych (48,6%) w rutynowym badaniu echokardiograficznym zobrazowano akinezę koniuszka lub segmentów koniuszkowych przylegających ścian. Średnia wartość EF, w momencie rekrutacji, wyniosła 37,4%, w tym u 7 chorych (18,4%) EF była mniejsza niż 30%.

U wszystkich chorych w zapisach EKG stwierdzono rytm zatokowy, u 5 chorych występował blok lewej odnogi pęczka Hisa. 23 pacjentów prezentowało obecność patologicznego załamka Q znad ściany przedniej, 12 chorych znad ściany dolnej, 2 znad ściany bocznej.

W chwili włączenia do badania, stężenie aldosteronu w surowicy krwi powyżej wartości referencyjnych (n: 1,97 – 26ng/dl) stwierdzono u 16 chorych, co stanowi aż 41,0% przypadków. Wśród uczestników badania jedynie 9 pacjentów było nosicielami allelu TT genu angiotensynogenu w pozycji 235. W grupie badanych nie stwierdzono nosicielstwa allelu TT w pozycji 174. Analiza podgrupy nosicieli allelu TT w pozycji 235 wykazała obecność jedynie u pięciu pacjentów podwyższonych wartości aldosteronu w surowicy krwi.

W trakcie trwania badania, w grupie mężczyzn, nie stwierdzono ginekomastii, bolesności gruczołów sutkowych.

4.2. Ocena parametrów badania podmiotowego

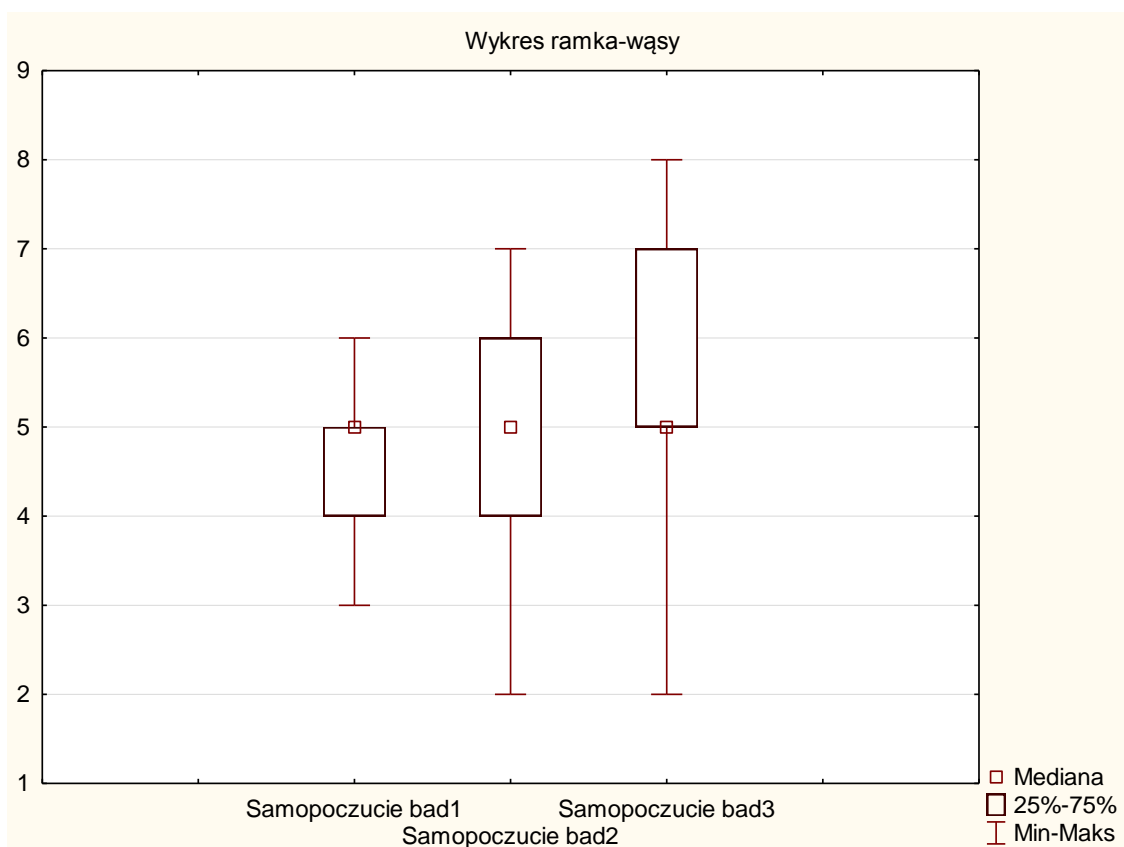
W grupie 36 pacjentów, którzy odbyli wszystkie zaplanowane wizyty, testem post-hoc wykazano statystyczną różnicę pomiędzy wizytą pierwszą a trzecią, dotyczącą zarówno subiektywnie odczuwanej zdolności do wysiłku, ocenianej przez pacjentów skali punktowej od 1-10 ($p=0,00006$), oraz poprawę w zakresie klinicznej oceny klasy NYHA, ocenianej przez badacza ($p=0,00059$).

Tab. 6. Średnie wartości punktów przyznanych w skali 1-10 oceniającej tolerancję wysiłku dla poszczególnych wizyt.

Skala samopoczucia	Statystyki opisowe					
	N ważnych	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl.	Górny Kwartyl.
Badanie nr 1	39	5,000000	3,000000	6,000000	4,000000	5,000000
Badanie nr 2	38	5,000000	2,000000	7,000000	4,000000	6,000000
Badanie nr 3	36	5,000000	2,000000	8,000000	5,000000	7,000000

Tab. 7. Wyniki analizy porównującej tolerancję wysiłku ocenianą przez pacjentów w skali 0-10 punktów.

Skala samopoczucia	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad.			
	ANOVA (N = 36 , df 2) =19,32075 p=0,00006 Współczynnik zgodności= ,27601 r śred. rang = ,25472			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch. std
Badanie nr 1	1,542857	54,00000	4,685714	0,963188
Badanie nr 2	2,000000	70,00000	5,200000	1,183216
Badanie nr 3	2,457143	86,00000	5,571429	1,399280



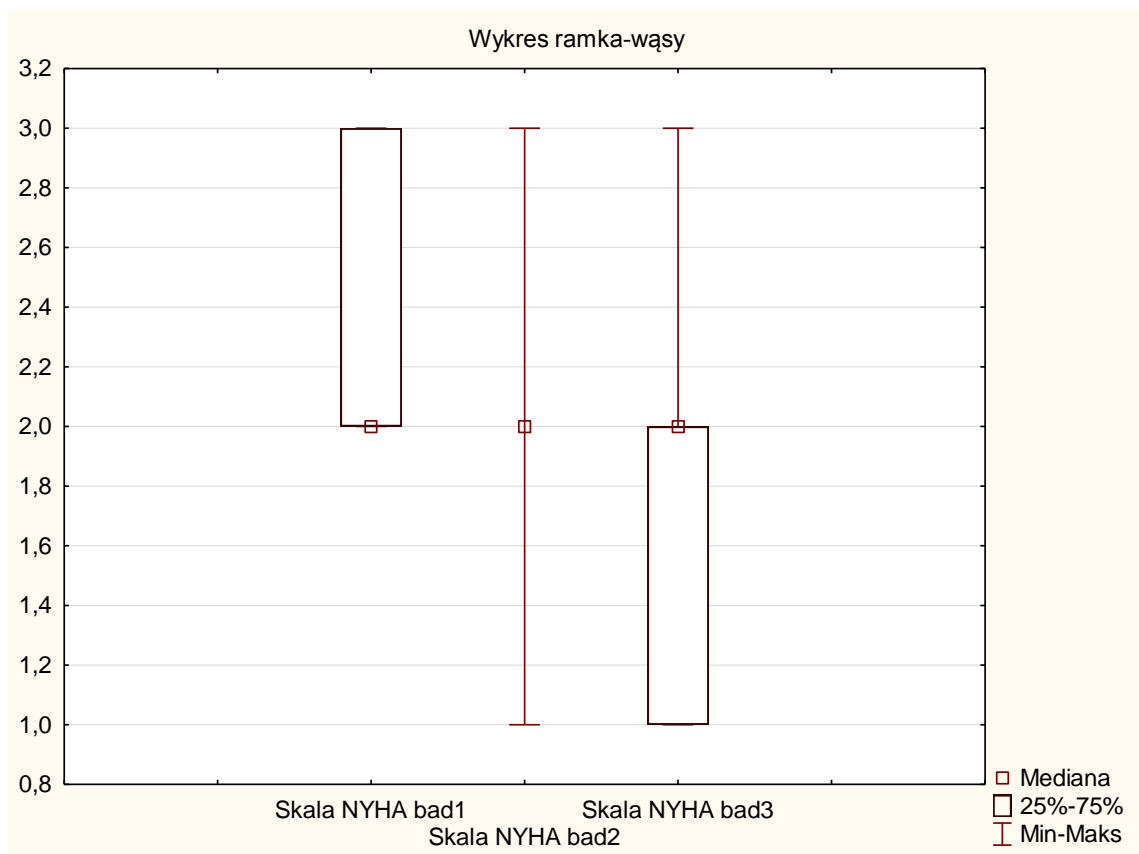
Ryc. 16. Wykres przedstawiający rozkład punktów w skali od 1-10 stosowany do oceny samopoczucia.

Tab. 8. Kliniczna ocena wydolności fizycznej dokonana w skali NYHA dla poszczególnych wizyt.

Ocena klasy NYHA	Statystyki opisowe					
	N ważnych	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl	Górny Kwartyl
Badanie nr 1	39	2,000000	2,000000	3,000000	2,000000	3,000000
Badanie nr 2	38	2,000000	1,000000	3,000000	2,000000	2,000000
Badanie nr 3	36	2,000000	1,000000	3,000000	1,000000	2,000000

Tab. 9. Wyniki analizy zmienności skali NYHA u pacjentów pomiędzy kolejnymi wizytami.

Ocena klasy NYHA	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36, df 2) = 14,86957 p=0,00059 Współczynnik zgodności = ,21242 r śred. rang = ,18926			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch. std
Badanie nr 1	2,342857	82,00000	2,257143	0,443440
Badanie nr 2	1,957143	68,50000	2,000000	0,542326
Badanie nr 3	1,700000	59,50000	1,800000	0,759257



Ryc. 17. Wykres zmienności skali NYHA dla poszczególnych wizyt.

4.3. Ocena parametrów badania przedmiotowego

W badaniu przedmiotowym oceniano obecność obrzęków i trzeszczeń nad polami płucnymi. Nie wykazano istotnych różnic statystycznych pomiędzy poszczególnymi wizytami ($p=0,318908$).

Tab. 10. Wyniki klinicznej oceny obrzęków obwodowych/ trzeszczeń nad polami płucnymi dla poszczególnych wizyt.

Obrzęki, zastój nad polami płucnymi	Statystyka opisowa					
	Badanie nr 1		Badanie nr 2		Badanie nr 3	
	Liczba	Procent	Liczba	Procent	Liczba	Procent
0	25	64,10256	29	71,79487	29	74,35897
1	14	35,89744	9	25,64103	7	17,94871
zrezygnował/zgon	0	0	1	2,56410	3	7,69230

Tab. 11. Wyniki analizy porównującej obecność obrzęków/ trzeszczeń nad polami płucnymi pomiędzy poszczególnymi wizytami.

Obrzęki, zastój nad polami płucnymi	Test Q Cochrańa , liczba ważnych przyp.:36 Q = 2,285714, df = 2, p=0,318908		
	Suma	Procent 0	Procent 1
Badanie nr 1	12,00000	65,71429	34,28571
Badanie nr 2	8,00000	77,14286	22,85714
Badanie nr 3	8,00000	77,14286	22,85714

4.4. Badania laboratoryjne

4.4.1. Ocena morfologii krwi, kreatyniny, potasu i NT- pro BNP.

Nie stwierdzono żadnych istotnych zmian w morfologii krwi w okresie całego badania u wszystkich pacjentów.

W trakcie sześciomiesięcznej obserwacji, nie obserwowano istotnego zwiększenia stężenia kreatyniny ani potasu w surowicy krwi, która spowodowałaby konieczność odstawienia spironolaktonu.

Tab. 12. Średnie wartości stężenia kreatyniny [mg/dl] dla poszczególnych wizyt.

Kreatynina	Statystyki opisowe					
	N ważnych	Średnia[mg/dl]	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch. std
Badanie nr 1	39	1,048718	1,000000	0,500000	2,200000	0,274218
Badanie nr 2	38	1,102632	1,000000	0,600000	2,200000	0,319194
Badanie nr 3	36	1,085714	1,100000	0,600000	1,700000	0,222477

Tab. 13. Wyniki analizy zmian stężeń kreatyniny [mg/dl]

Kreatynina	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36, df 2) = 1,135135 p = 0,56690 Współczynnik zgodności = ,01622 r śred. rang = -,0127			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch. std
Badanie nr 1	1,871429	65,50000	1,060000	0,285121
Badanie nr 2	2,042857	71,50000	1,091429	0,298399
Badanie nr 3	2,085714	73,00000	1,085714	0,222477

Tab. 14. Średnie wartości stężeń potasu [mmol/l] w surowicy krwi dla poszczególnych wizyt.

Potas	Statystyki opisowe					
	N ważnych	Średnia [mmol/l]	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch. std
Badanie nr 1	39	4,543590	4,500000	3,900000	5,500000	0,407686
Badanie nr 2	38	4,647368	4,500000	3,800000	5,600000	0,469466
Badanie nr 3	36	4,528571	4,500000	3,800000	6,000000	0,506180

Tab. 15. Analiza zmian stężeń potasu [mmol/l] dla poszczególnych wizyt.

Potas	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36, df 2) = 1,970370 p=0 ,37337 Współczynnik zgodności = ,02815 r śred. rang = -,4E-3			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch. std
Badanie nr 1	1,871429	65,50000	4,517143	0,411229
Badanie nr 2	2,185714	76,50000	4,637143	0,479636
Badanie nr 3	1,942857	68,00000	4,528571	0,506180

4.4.2. Ocena NT- pro BNP

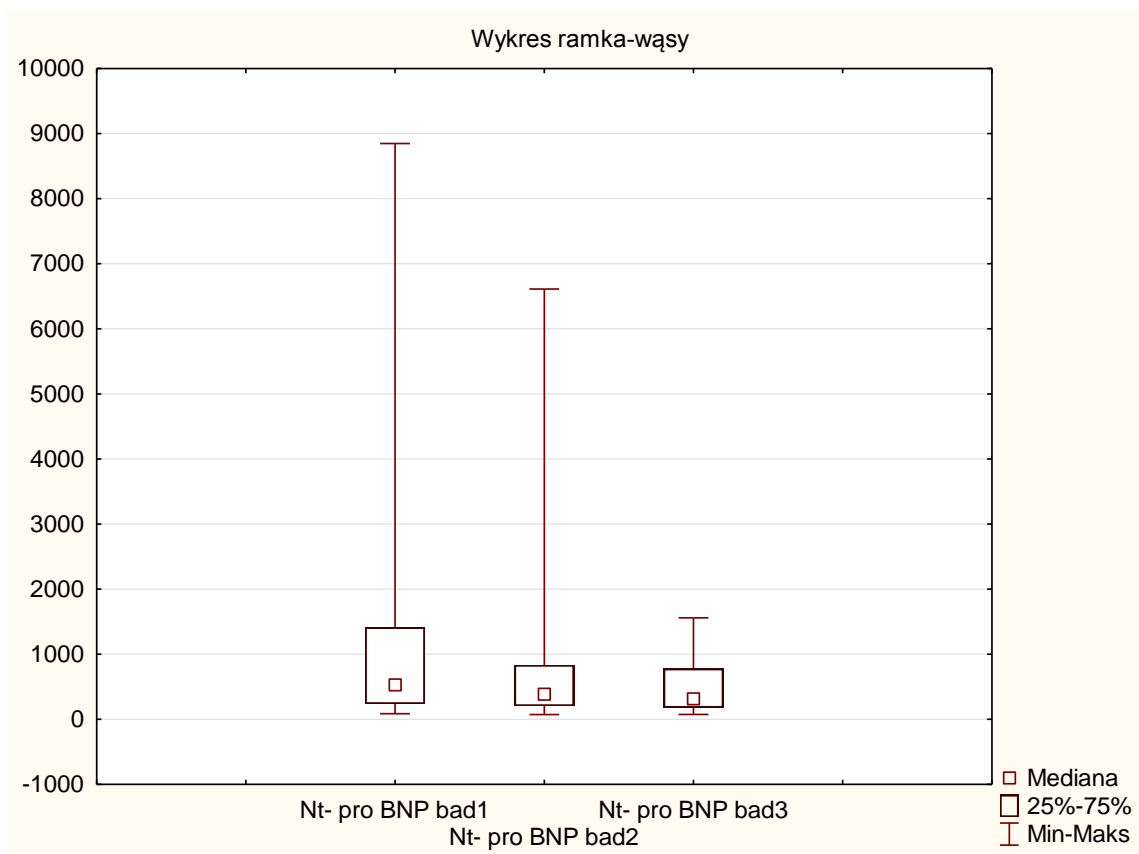
Ocena dynamiki zmian stężeń NT- pro BNP [pg/ml] pomiędzy kolejnymi wizytami, wykazała istotne statystycznie zmniejszenie wartości stężeń NT- pro BNP pomiędzy każdą wizytą ($p=0,00293$).

Tab. 16. Średnie stężenia NT- pro BNP [pg/ml] dla poszczególnych wizyt.

NT- pro BNP	Statystyki opisowe					
	N ważnych	Średnia [pg/ml]	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch. std
Badanie nr 1	39	1118,138	534,0000	87,00000	8849,000	1642,230
Badanie nr 2	38	727,729	388,0000	74,00000	6611,000	1120,201
Badanie nr 3	36	471,997	319,0000	76,00000	1560,000	378,261

Tab. 17. Analiza zmian stężeń NT- pro BNP [pg/ml] dla poszczególnych wizyt.

NT- pro BNP	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36, df 2) = 11,66906 $p=0,00293$ Współczynnik zgodności = ,16670 r śred. rang = ,14219			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch. std
Badanie nr 1	2,442857	85,50000	1016,811	1530,151
Badanie nr 2	1,914286	67,00000	582,934	560,860
Badanie nr 3	1,642857	57,50000	471,997	378,261



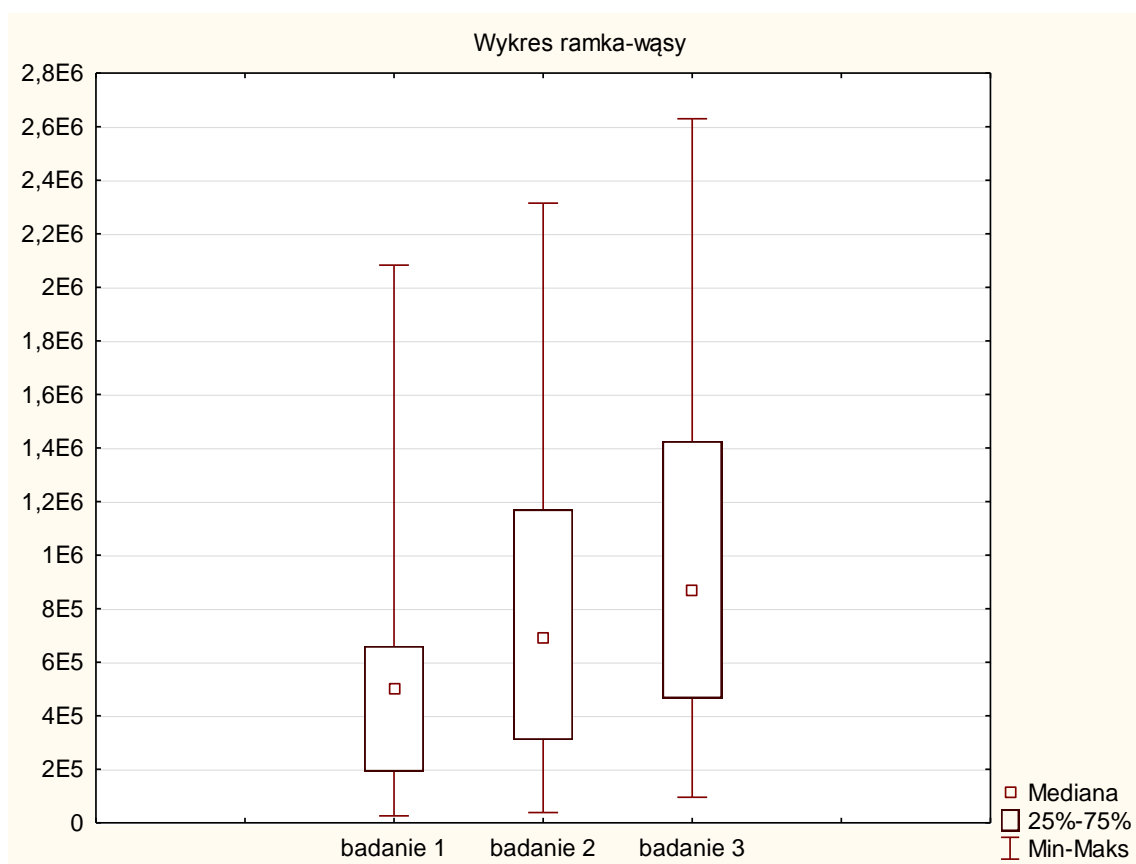
Ryc. 18. Dynamika zmian stężeń NT- pro BNP [pg/ml] między wizytami.

4.5. Ocena próby wysiłkowej

W trakcie trwania badania 32 chorych wykonało próby wysiłkowe zgodnie z planem wizyt. Wśród siedmiu pacjentów, którzy zrezygnowali z wykonania testu wysiłkowego, jedna osoba zrezygnowała z uczestnictwa w badaniu po pierwszej wizycie, dwóch pacjentów zmarło, pozostali czterej uznali wykonywanie próby wysiłkowej za zbyt niekomfortowe i zrezygnowali z tego elementu wizyty. W analizie statystycznej uwzględniono 32 chorych u których odbyły się wszystkie planowane testy wysiłkowe. W trakcie sześciomiesięcznej obserwacji wykazano istotny statystycznie wzrost, pomiędzy każdą wizytą ($p=0,000$), iloczynu wybranych do oceny wydolności fizycznej parametrów.

Tab. 18. Ocena iloczynu parametrów ocenianych w teście wysiłkowym dla poszczególnych wizyt.

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 32, df 2) = 28,42424 p ,00000 Współczynnik zgodności = ,43067 r śred. rang = ,41288			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch. std
iloczyn parametrów testu bad1	1,303030	43,00000	631078	488858,7
iloczyn parametrów testu bad2	2,090909	69,00000	895113	671191,3
iloczyn parametrów testu bad3	2,606061	86,00000	1025183	670527,2



Ryc. 19. Wykres zmienności iloczynu parametrów testu wysiłkowego dla poszczególnych wizyt.

4.6. Badanie echokardiograficzne

4.6.1. Ocena tradycyjnych parametrów echokardiograficznych.

Analizie statystycznej poddano następujące parametry: wymiar końcowo-rozkurczowy lewej komory (LVED), iloraz fali E i A napływu mitralnego (E/A), iloraz fali E napływu mitralnego i wczesnorozkurczowego ruchu pierścienia mitralnego (E/e'), frakcja wyrzutowa lewej komory oceniona metodą Simpsona (LVEF) oraz wskaźnik kurczliwości (WMSI). W trakcie sześciomiesięcznej obserwacji wykazano tendencję do poprawy jedynie w zakresie frakcji wyrzutowej. Średnia wartość LVEF dla pierwszej wizyty wyniosła 37,41026%, dla drugiej 39,13158%, a dla trzeciej 39,57143%. Zaznaczyć trzeba jednak, że uzyskano jedynie graniczną znamienność statystyczną ($p=0,05058$).

Tab. 19. Zestawienie wyników wybranych, tradycyjnych parametrów echokardiograficznych.

Zmienna	Statystyki opisowe							
	N ważn ych	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl	Górny Kwartyl	Odch. std
LVED bad1 [mm]	39	56,61538	58,00000	42,00000	73,00000	51,00000	61,00000	7,54849
LVED bad2 [mm]	38	54,97368	56,50000	10,00000	70,00000	50,00000	60,00000	10,88139
LVED bad3 [mm]	36	54,77143	58,00000	10,00000	70,00000	50,00000	62,00000	10,97882
E/A bad1	39	0,90949	0,72000	0,40000	3,30000	0,64000	0,99000	0,50904
E/A bad2	38	0,85919	0,78000	0,42000	3,30000	0,64000	0,90000	0,47817
E/A bad3	36	0,89118	0,72000	0,40000	4,60000	0,60000	0,90000	0,71111
E/e' bad1	39	12,54821	11,00000	5,45000	37,00000	9,30000	14,00000	5,97749
E/e' bad2	38	11,62000	10,20000	5,20000	29,00000	8,80000	14,30000	4,44990
E/e' bad3	36	10,51400	11,00000	4,70000	17,00000	8,60000	12,00000	3,01044
LVEF% bad1	39	37,41026	38,00000	23,00000	48,00000	30,00000	45,00000	8,36886

Zmienna	Statystyki opisowe							
	N ważn ych	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl	Górny Kwartyl	Odch. std
LVEF% bad2	38	39,13158	39,00000	25,00000	50,00000	33,00000	45,00000	7,48032
LVEF% bad3	36	39,57143	40,00000	19,00000	60,00000	33,00000	48,00000	9,52485
WMSI bad1	39	1,56860	1,50000	1,05880	2,11764	1,35294	1,82352	0,01751
WMSI bad2	38	1,55411	1,50000	1,00000	2,17647	1,29411	1,76470	0,43080
WMSI bad3	36	1,57310	1,48000	1,00000	2,23529	1,23529	1,94117	1,17082

Tab. 20. Analiza zmian wymiaru końcowo-rozkurczowego lewej komory (LVED)

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36 , df 2) = 2,489362 p=0,28803 Współczynnik zgodności = ,03556 r śred. rang = ,00720			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch. std
LVED bad1	2,171429	76,00000	57,34286	7,38019
LVED bad2	1,957143	68,50000	55,34286	11,10099
LVED bad3	1,871429	65,50000	54,77143	10,97882

Tab. 21. Analiza zmian ilorazu fali E i A napływu mitralnego.

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36 , df 2) =,5794393 p=0,74847 Współczynnik zgodności = ,00852 r śred. rang = -,0215			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch. std
E/A bad1	2,014706	68,50000	0,938824	0,534760
E/A bad2	2,073529	70,50000	0,879118	0,492922
E/A bad3	1,911765	65,00000	0,891176	0,711114

Tab. 22. Analiza zmian ilorazu fali wczesnorozkurczowego napływu mitralnego i prędkości wczesno-rozkurczowego ruchu pierścienia mitralnego.

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36, df 2) = 2,070796 p=0,35509 Współczynnik zgodności = ,02958 r śred. rang = ,00104			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch.std
E/e' bad1	2,171429	76,00000	12,69171	6,237377
E/e' bad2	1,95743	68,50000	11,08600	3,395515
E/e' bad3	1,871429	65,50000	10,51400	3,010445

Tab. 23. Analiza zmian wielkości frakcji wyrzutowej ocenianej metodą Simpsona.

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36, df 2) = 5,968504 p=0,05058 Współczynnik zgodności = ,08526 r śred. rang = ,05836			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch. std
LVEF% bad1	1,685714	59,00000	37,25714	8,627394
LVEF% bad2	2,100000	73,50000	38,65714	7,483090
LVEF% bad3	2,214286	77,50000	39,57143	9,524846

Tab. 24. Analiza zmian wartości wskaźnika kurczliwości (WMSI)

Efekt	ANOVA Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	p
WMSI	Wilksa	0,9652	0,521689	2	33	0,598331

4.6.2. Ocena parametrów odkształcenia okrężnego

4.6.2.1. Odkształcenie okrężne na poziomie zastawki mitralnej lewej komory

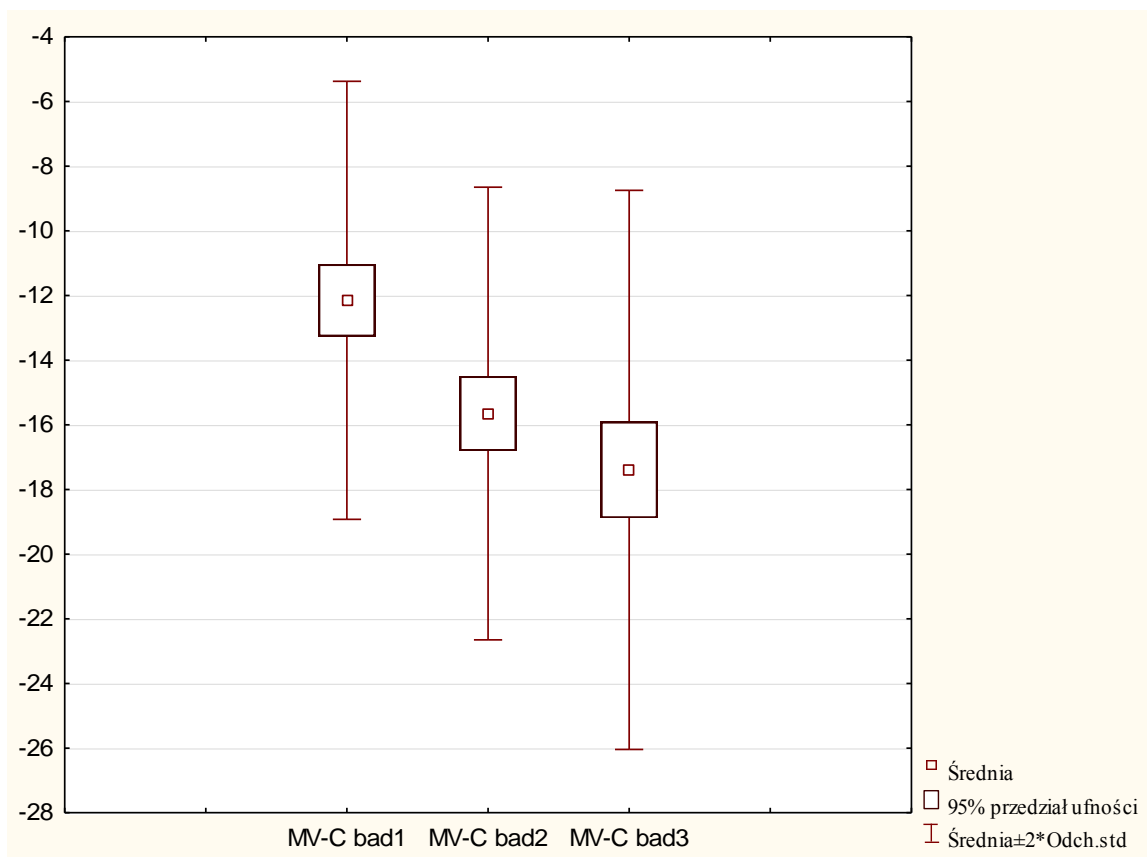
Średnie wartości maksymalnego skurczowego odkształcenia okrężnego segmentów lewej komory na poziomie zastawki mitralnej oznaczonych w badaniu jako MV-C zawarto w tabeli nr 25. Testem post hoc Tukeya wykazano istotną statystycznie poprawę między wizytą 1 a 2 ($p=0,000112$), wizytą 1 a 3 ($p=0,000112$) oraz 2 a 3 ($p=0,008697$).

Tab. 25. Średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory

Zmienna	Statystyki opisowe		
	N ważnych	Średnia	Odch.std
MV-C bad1	39	-12,1498	3,388007
MV-C bad2	38	-15,6512	3,500800
MV-C bad3	36	-17,3947	4,323896

Tab. 26. Wyniki testu post-hoc, określający istotność różnic pomiędzy średnimi grupowymi dla maksymalnego skurczowego odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory

Nr podkl.	Test HSD Tukeya; zmienna DV_1			
	MV-C	1	2	3
	Przybliżone prawdopodobieństwa dla testów post hoc			
	Błąd: MS powt. pomiarów = 6,2628, df = 68,000			
1	MV-C bad1	---	0,000112	0,000112
2	MV-C bad2	0,000112	----	0,008697
3	MV-C bad3	0,000112	0,008697	----



Ryc. 20. Wykres ramka-wąsy przedstawiający zmianę wartości maksymalnego odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory dla poszczególnych wizyt.

4.6.2.2. Odształcenie okrężne na poziomie mięśni brodawkowatych

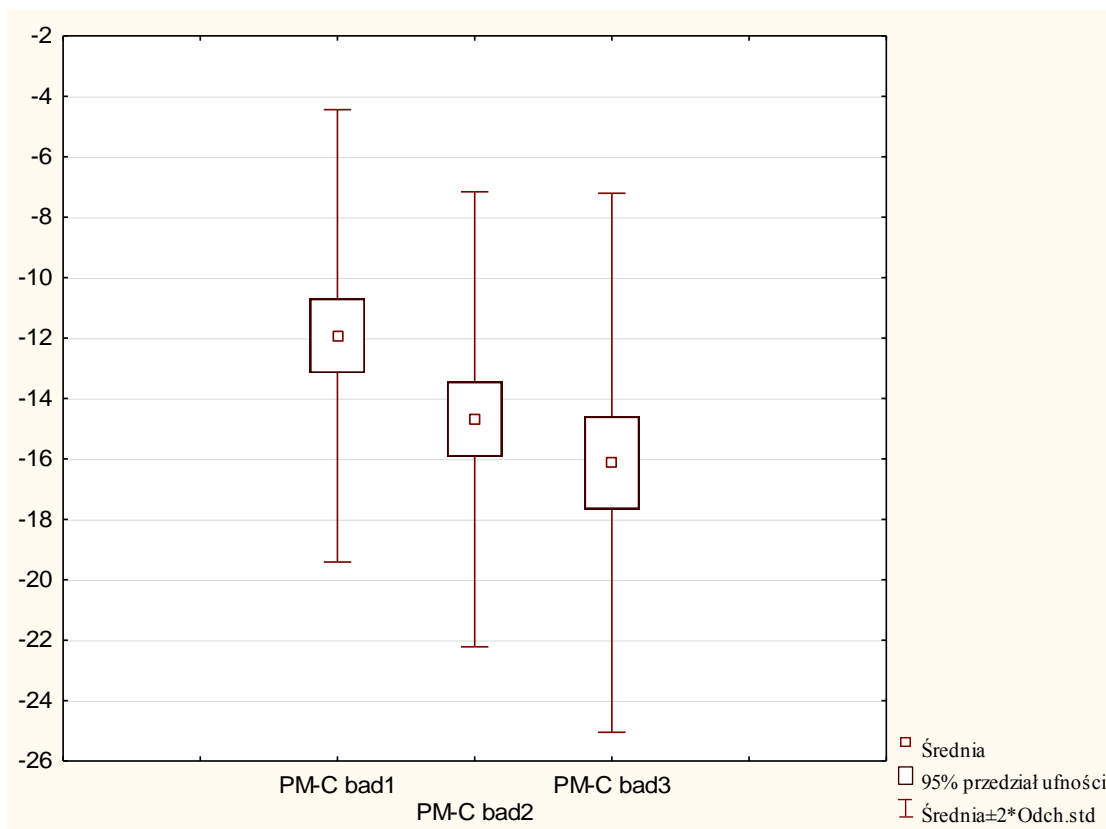
Średnie wartości odkształcenia okrężnego segmentów na poziomie mięśni brodawkowatych, oznaczonych w badaniu jako PM-C przedstawia tabela nr 27. Analiza statystyczna wartości odkształcenia okrężnego segmentów na tym poziomie, wykazała istotną statystycznie różnicę pomiędzy wizytą 1 a 2 ($p=0,00029$) oraz 1 a 3 ($p=0,000112$)

Tab. 27. Średnie wartości maksymalnego skurczowego odkształcenia okrężnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory.

Zmienna	Statystyki opisowe		
	N ważnych	Średnia	Odch.std
PM-C bad1	39	-11,9261	3,742654
PM-C bad2	38	-14,6873	3,764487
PM-C bad3	36	-16,1272	4,459873

Tab. 28. Wyniki testu post hoc, określający istotność różnic pomiędzy średnimi grupowymi dla maksymalnego skurczowego odkształcenia okrężnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory.

Nr podkl.	Test HSD Tukeya; zmienna DV_1			
	PM-C	1	2	3
	Przybliżone prawdopodobieństwa dla testów post hoc Błąd: MS powt. pomiarów = 7,8867, df = 68,000			
1	PM-C bad1	---	0,000290	0,000112
2	PM-C bad2	0,000290	----	0,076882
3	PM-C bad3	0,000112	0,076882	----



Ryc. 21. Wykres ramka- wąsy przedstawiający zmianę wartości maksymalnego odkształcenia okrężnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory dla poszczególnych wizyt.

4.6.2.3. Odkształcenie okrężne na poziomie koniuszka lewej komory

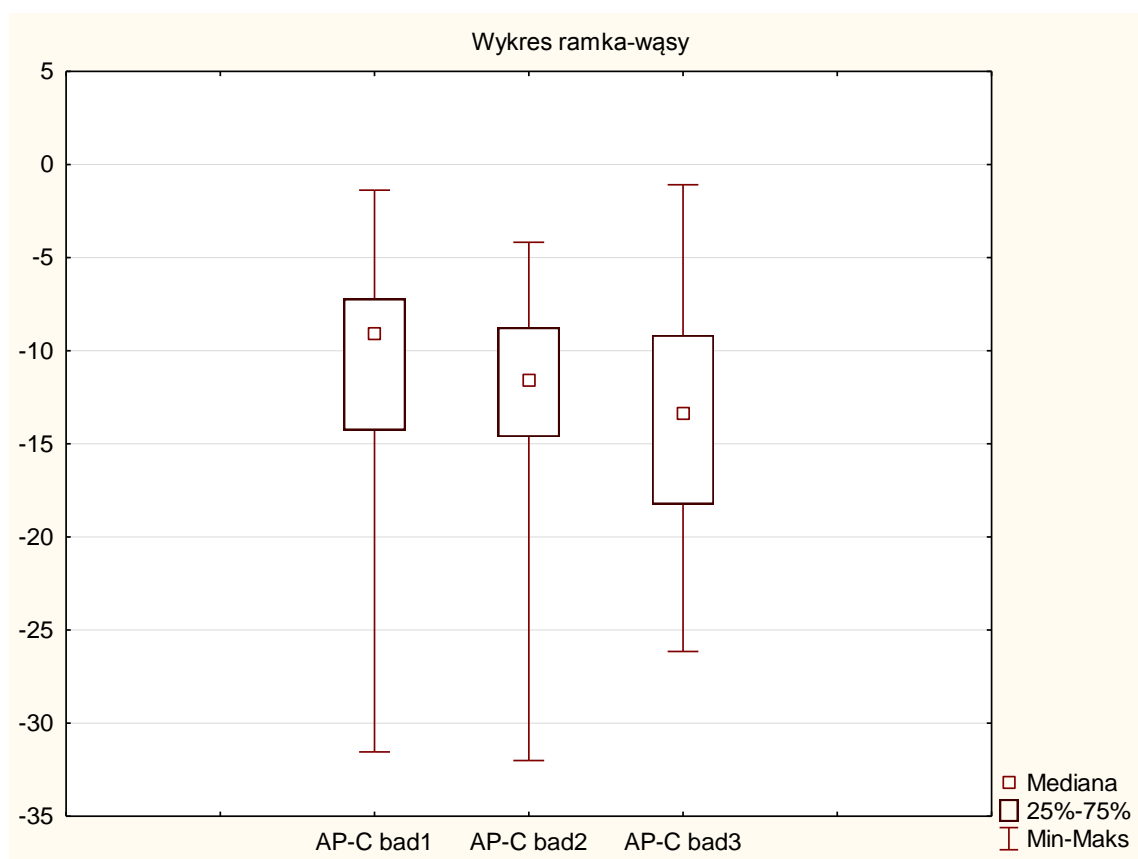
Średnie wartości odkształcenia okrężnego segmentów na poziomie koniuszka lewej komory, oznaczonych w badaniu jako AP-C przedstawia tabela nr 29. Analiza statystyczna wartości odkształcenia okrężnego segmentów na poziomie koniuszka lewej komory, testem post hoc Dunna wykazała istotną statystycznie różnicę między wizytą 1 a 3 ($p=0,00044$).

Tab. 29. Średnie wartości maksymalnego skurczowego odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka lewej komory.

Zmienna	Statystyki opisowe		
	N ważnych	Średnia	Odch.std
AP-C bad1	39	-9,0883	-31,5483
AP-C bad2	38	-11,5917	-32,0067
AP-C bad3	36	-13,3783	-26,1500

Tab. 30. Wyniki testu post hoc, określający istotność różnic pomiędzy średnimi grupowymi dla maksymalnego skurczowego odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka lewej komory.

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36 , df 2) =15,46763 p ,00044 Współczynnik zgodności= ,22097 r śred. rang = ,19805			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch.std
AP-C bad1	2,500000	87,50000	-11,1882	6,554073
AP-C bad2	1,928571	67,50000	-12,2180	5,176406
AP-C bad3	1,571429	55,00000	-13,8495	5,517695



Ryc. 22. Wykres ramka- wąsy przedstawiający zmianę wartości maksymalnego odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka lewej komory dla poszczególnych wizyt.

4.6.3. Ocena parametrów odkształcenia radialnego

4.6.3.1. Odkształcenie radialne na poziomie zastawki mitralnej

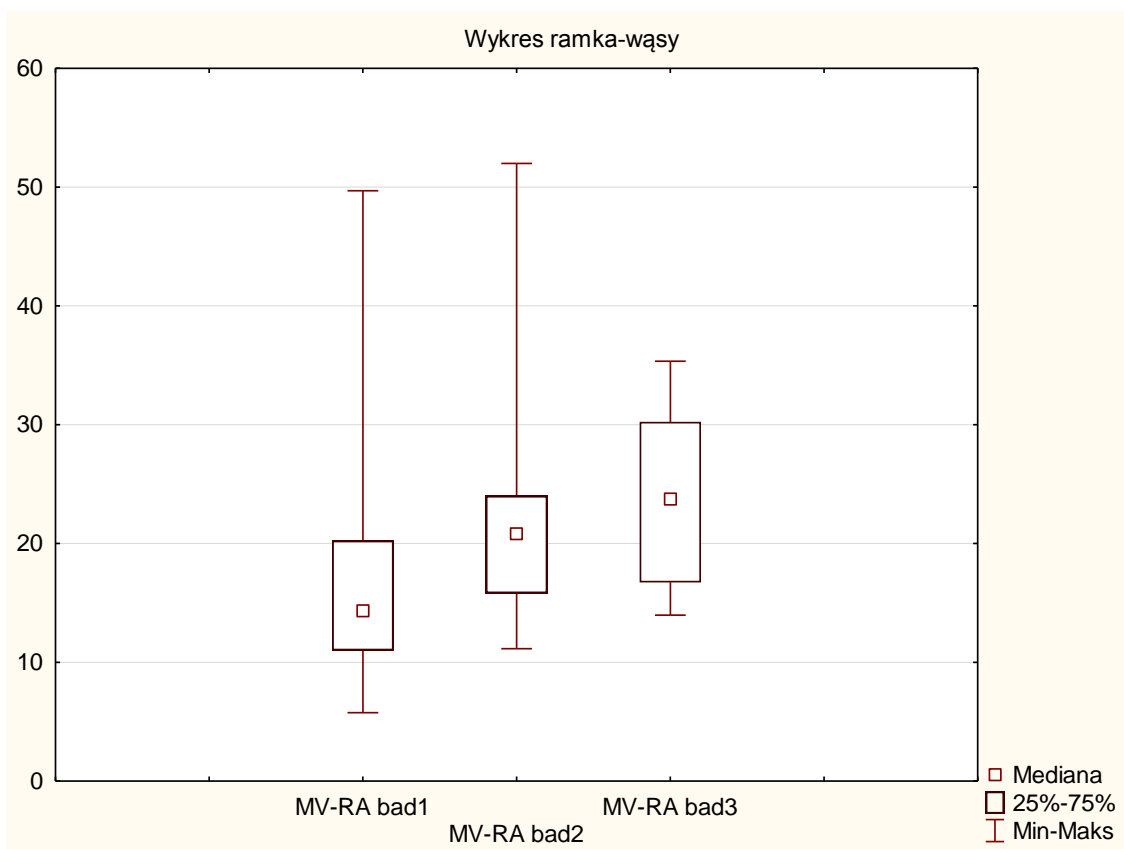
Średnie wartości maksymalnego odkształcenie skurczowego radialnego na poziomie zastawki mitralnej dla poszczególnych wizyt przedstawia tabela nr 31. Testem post hoc Dunna wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy wizytami 1 a 2 , 1 a 3 oraz 2 a 3 ($p=0.000$)

Tab.31. Średnie wartości maksymalnego odkształcenie skurczowego radialnego na poziomie zastawki mitralnej dla poszczególnych wizyt.

Zmienna	Statystyki opisowe			
	N ważnych	Mediana	Minimum	Maksimum
MV-RA bad1	39	14,3292	5,7650	49,69167
MV-RA bad2	38	20,8342	11,1450	51,99333
MV-RA bad3	36	23,7267	13,9667	35,34333

Tab. 32. Wyniki testu post hoc Dunna, określający istotność różnic pomiędzy średnimi grupowymi dla maksymalnego skurczowego odkształcenia radialnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory.

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36 , df 2) =33,94245 p ,00000 Współczynnik zgodności= ,48489 r śred. rang = ,46974			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch.std
MV-RA bad1	1,328571	46,50000	15,54338	7,859447
MV-RA bad2	1,957143	68,50000	19,58411	5,469144
MV-RA bad3	2,714286	95,00000	23,45443	6,793917



Ryc. 23. Wykres ramka- wąsy przedstawiający zmianę wartości maksymalnego odkształcenia radialnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory dla poszczególnych wizyt.

4.6.3.2. Odkształcenie radialne na poziomie mięśni brodawkowatych

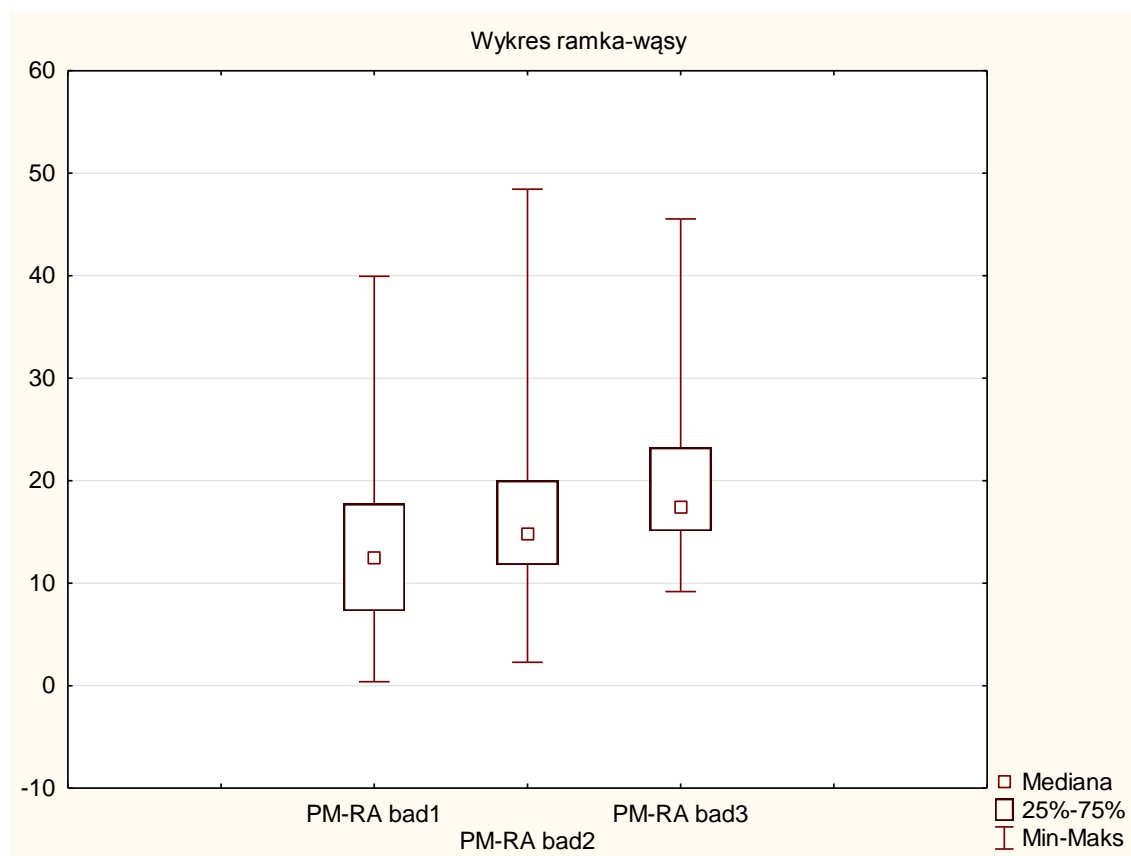
Średnie wartości maksymalnego skurczowego odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory dla poszczególnych wizyt przedstawia tabela nr 33. Test post hoc Dunna wykazał istotną różnicę między wizytami 1 a 2 , 1 a 3 oraz 2 a 3 ($p=0.000$).

Tab. 33. Średnie wartości maksymalnego skurczowego odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych dla poszczególnych wizyt.

Zmienna	Statystyki opisowe			
	N ważnych	Mediana	Minimum	Maksimum
PM-RA bad1	39	12,4883	0,3850	39,94667
PM-RA bad2	38	14,8175	2,2783	48,44500
PM-RA bad3	36	17,4067	9,1850	45,53333

Tab. 34. Wyniki testu post hoc Dunna, określający istotność różnic pomiędzy średnimi grupowymi dla maksymalnego skurczowego odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych dla poszczególnych wizyt.

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36 , df 2) =28,51471 p ,00000 Współczynnik zgodności= ,40735 r śred. rang = ,38992			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch.std
PM-RA bad1	1,357143	47,50000	12,64886	8,117068
PM-RA bad2	2,028571	71,00000	16,85557	9,432225
PM-RA bad3	2,614286	91,50000	19,69681	8,713272



Ryc. 24. Wykres ramka- wąsy przedstawiający zmianę wartości maksymalnego odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory dla poszczególnych wizyt.

4.6.3.3. Odształcenie radialne na poziomie koniuszka lewej komory

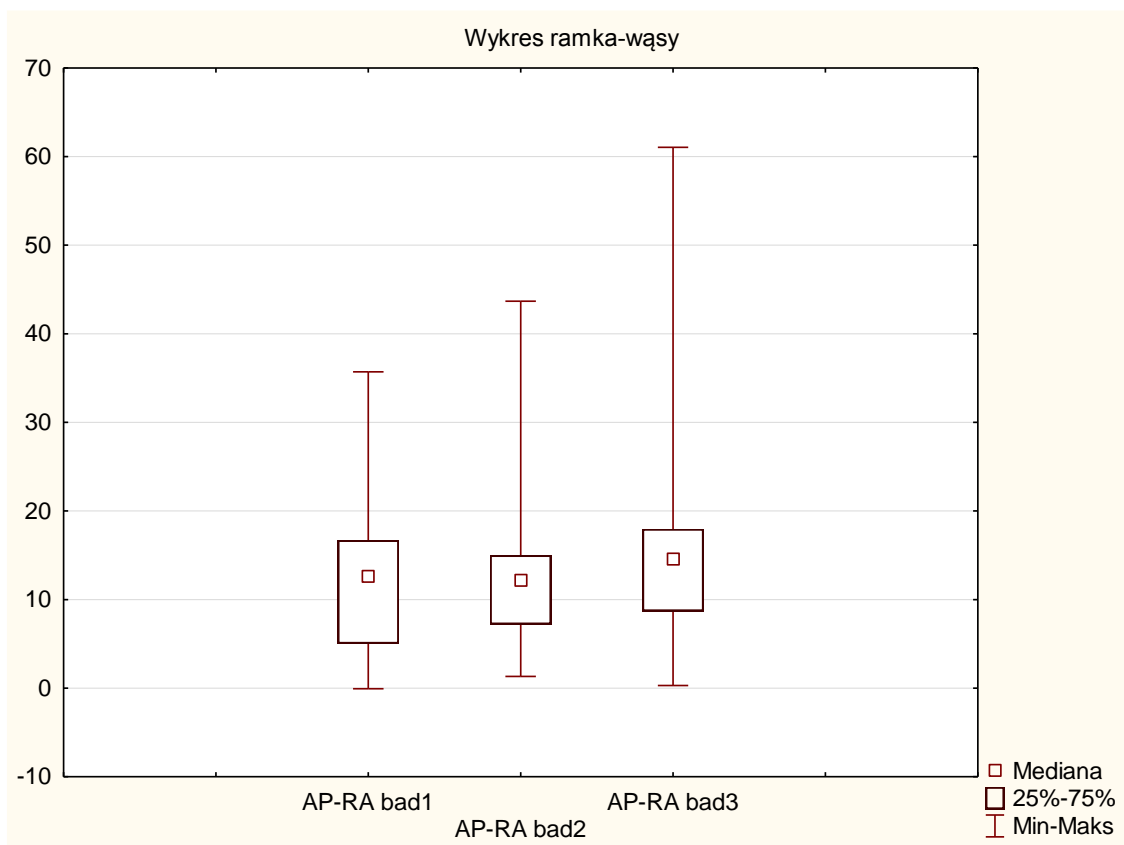
Średnie wartości maksymalnego skurczowego odształcenia radialnego na poziomie koniuszka lewej komory dla poszczególnych wizyt przedstawia tabela nr 35. Test post hoc Dunna wykazał brak istotnych różnic między wizytami ($p=0,073$).

Tab. 35. Średnie wartości maksymalnego skurczowego odształcenia radialnego na poziomie koniuszka lewej komory dla poszczególnych wizyt.

Zmienna	Statystyki opisowe			
	N ważnych	Mediana	Minimum	Maksimum
AP-RA bad1	39	12,6200	-0,0667	35,69667
AP-RA bad2	38	12,1808	1,3267	43,68000
AP-RA bad3	36	14,5900	0,2950	61,03500

Tab. 36. Wyniki testu post hoc Dunna, określający istotność różnic pomiędzy średnimi grupowymi dla maksymalnego skurczowego odształcenia radialnego na poziomie koniuszka lewej komory dla poszczególnych wizyt.

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36 , df 2) =5,231884 p ,07310 Współczynnik zgodności= ,07474 r śred. rang = ,04753			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch.std
AP-RA bad1	1,771429	62,00000	12,44905	8,40962
AP-RA bad2	1,928571	67,50000	12,69081	8,19185
AP-RA bad3	2,300000	80,50000	15,69456	11,68323



Ryc. 25. Wykres ramka- wąsy przedstawiający zmianę wartości maksymalnego odkształcenia radialnego na poziomie koniuszka lewej komory dla poszczególnych wizyt.

4.6.4. Maksymalne skurczowe odkształcenie podłużne

Średnie wartości maksymalnego, skurczowego odkształcenia podłużnego lewej komory dla poszczególnych wizyt oznaczone jako LGS zawiera tab. nr 37.

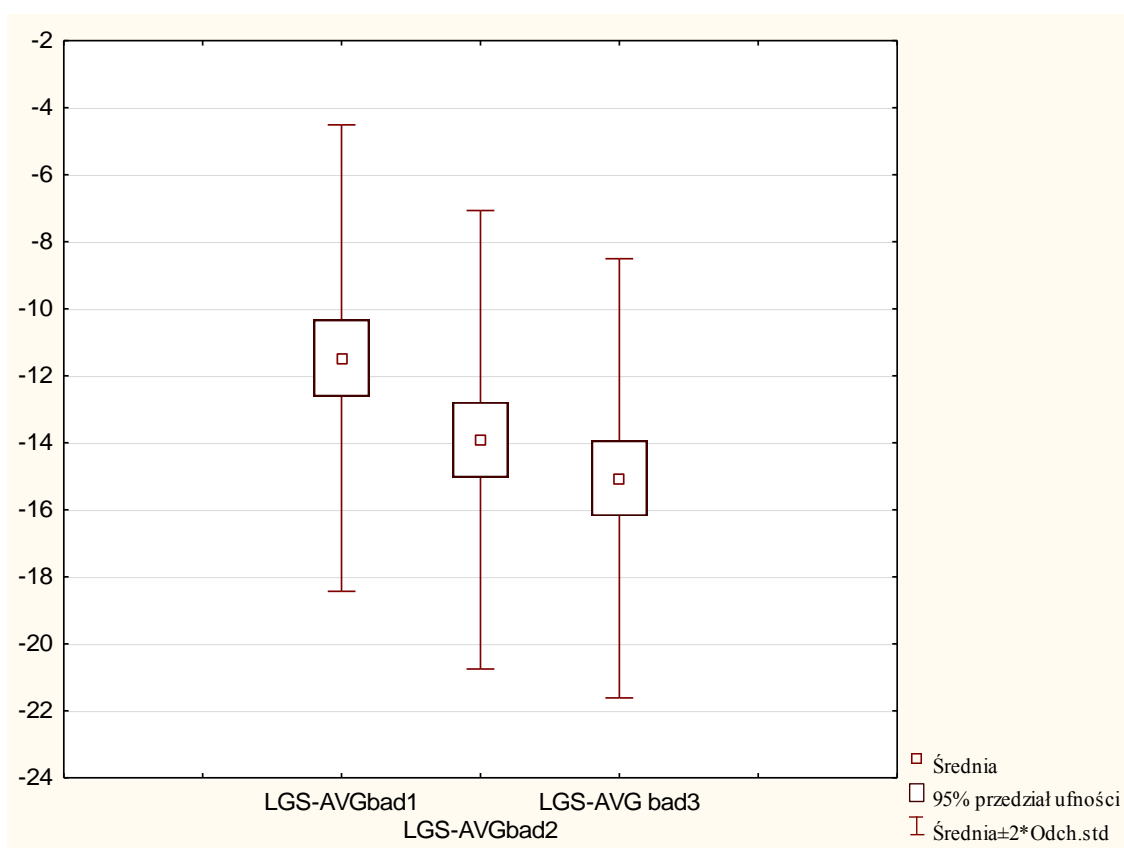
Testem Tukeya wykazano istotną statystycznie różnicę między wizytą 1 a 2 (0,000112), 1 a 3 (0,000112) oraz 2 a 3 (0,007166).

Tab. 37. Średnie wartości odkształcenia podłużnego segmentów lewej komory dla poszczególnych wizyt.

Zmienna	Statystyki opisowe					
	N ważnych	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch. std
LGS-AVG bad1	39	-11,3480	-10,9150	-19,10	-5,40000	3,4805
LGS-AVG bad2	38	-13,9040	-14,2500	-20,00	-5,40000	3,4202
LGS-AVG bad3	36	-15,0597	-10,2000	-19,100	-5,40000	3,61103

Tab. 38. Wyniki testu post-hoc, określający istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami odkształcenia podłużnego lewej komory dla poszczególnych wizyt.

Nr podkl.	Test HSD Tukeya; zmienna DV_1 Przybliżone prawdopodobieństwa dla testów post hoc Błąd: MS powt. pomiarów = 2,3770, df = 68,000			
	LGS AVG	1	2	3
1	LGS-AVGbad1	-----	0,000112	0,000112
2	LGS-AVGbad2	0,000112	----	0,007166
3	LGS-AVG bad3	0,000112	0,007166	-----



Ryc. 26. Wykres ramka- wąsy przedstawiający zmianę średniego odkształcenia podłużnego lewej komory w trakcie trwania badania.

4.6.5. Ocena rotacji lewej komory

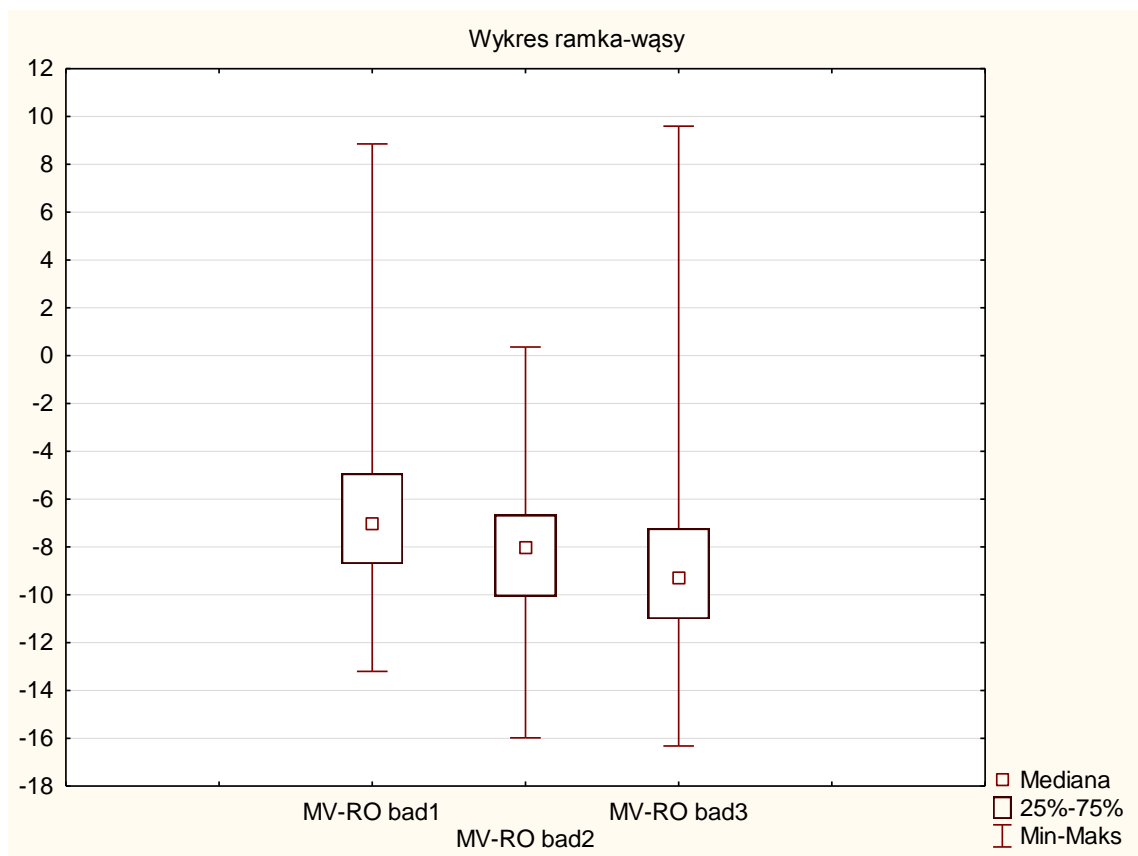
Średnie wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej i poziomie koniuszka lewej komory przedstawia tabela nr 39. Test post hoc Dunna wykazał istotne różnice pomiędzy każdą wizytą dla wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej lewej komory ($p=0,00049$), natomiast na poziomie koniuszka istotna różnica pomiędzy wartościami rotacji widoczna była pomiędzy wizytą 1 a 2 ($p=0,02006$).

Tab. 39. Średnie wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej i koniuszka lewej komory w trakcie trwania badania.

Zmienna	Statystyki opisowe			
	N ważnych	Mediana	Minimum	Maksimum
MV-RO bad1	39	-7,0308	-13,2033	8,85167
MV-RO bad2	38	-8,0275	-15,9833	0,36000
MV-RO bad3	36	-9,3033	-16,3217	9,59333
AP-RO bad1	39	6,5633	-11,9467	16,65333
AP-RO bad2	38	8,1533	-9,4567	18,57833
AP-RO bad3	36	8,7717	-13,0633	23,94333

Tab. 40. Wyniki testu post hoc Dunna dla poszczególnych wizyt, określający istotność różnic pomiędzy średnimi grupowymi dla wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej lewej komory.

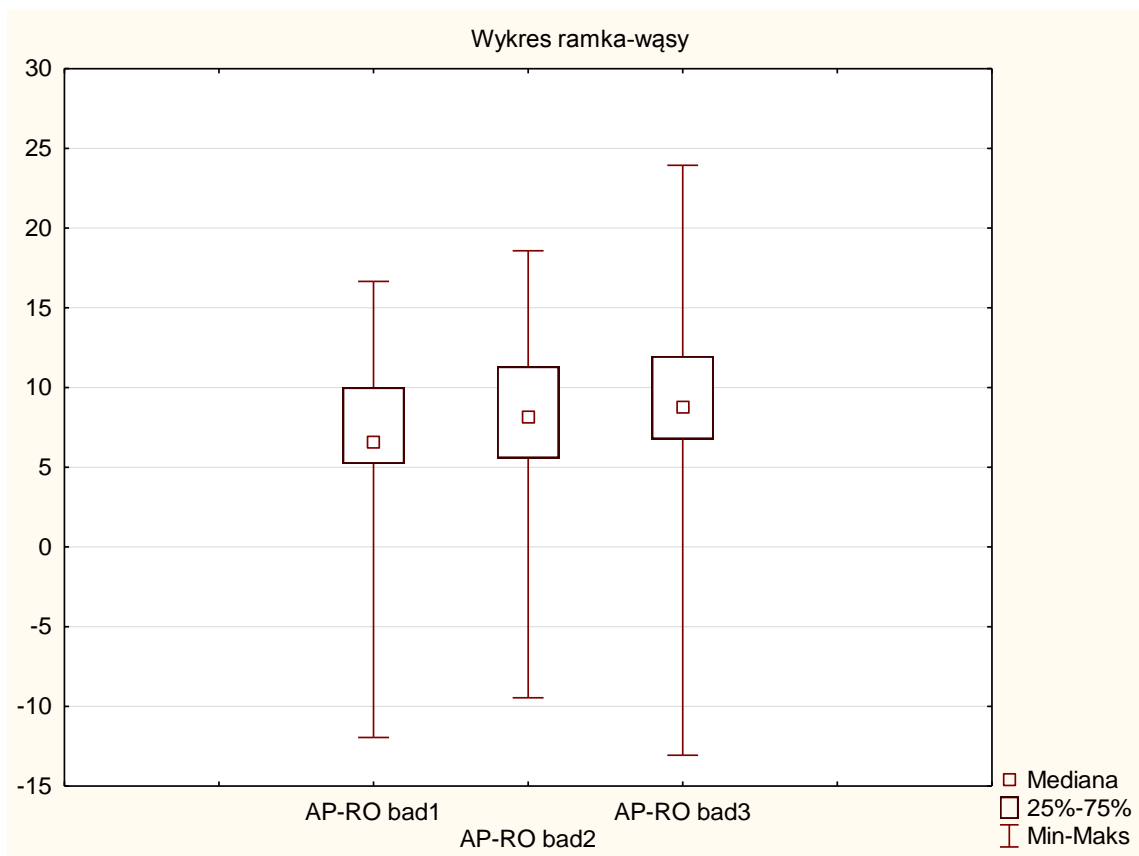
Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności			
	Chi kwad. ANOVA (N = 36 , df 2) =15,26087 p ,00049 Współczynnik zgodności= ,21801 r śred. rang = ,19501			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch.std
MV-RO bad1	2,514286	88,00000	-6,71429	3,566482
MV-RO bad2	1,871429	65,50000	-8,48900	3,171867
MV-RO bad3	1,614286	56,50000	-8,98105	4,516102



Ryc. 27. Wykres ramka- wąsy przedstawiający zmianę wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej lewej komory w trakcie badania.

Tab. 41. Wyniki testu post hoc Dunna dla poszczególnych wizyt, określający istotność różnic pomiędzy średnimi grupowymi dla wartości rotacji na poziomie koniuszka lewej komory.

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36 , df 2) =7,818182 p ,02006 Współczynnik zgodności= ,11497 r śred. rang = ,08815			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch.std
AP-RO bad1	1,617647	55,00000	5,371275	6,593185
AP-RO bad2	2,235294	76,00000	7,884069	5,722851
AP-RO bad3	2,147059	73,00000	8,468529	6,014908



Ryc. 28. Wykres ramka- wąsy przedstawiający zmianę wartości rotacji na poziomie koniuszka lewej komory w trakcie badania.

4.6.6. Ocena skrętu lewej komory

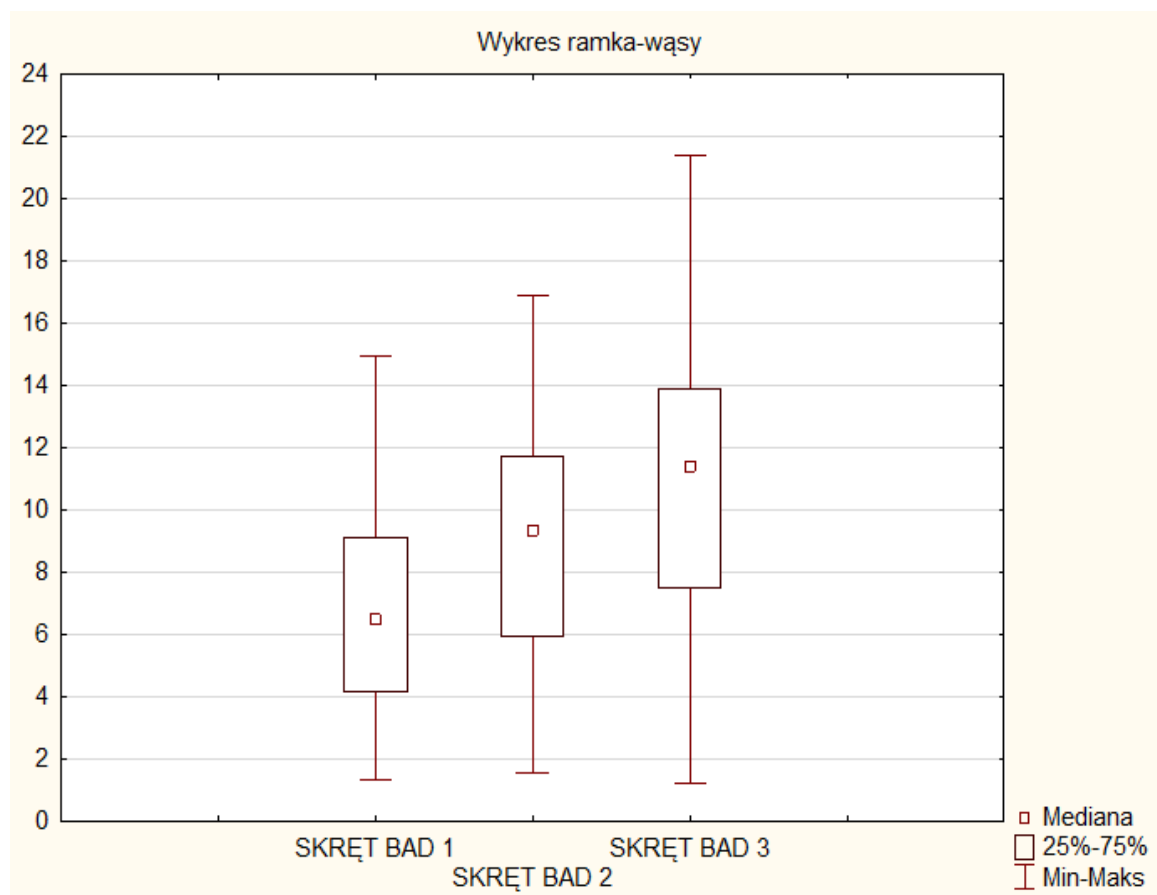
Średnie wartości skrętu lewej komory dla poszczególnych wizyt przedstawia tabela nr 42. Testem post hoc Tukeya wykazano istotne różnice, pomiędzy wizytą 1 a 2 ($p=0,000112$), 1 a 3 ($p=0,000112$) oraz 2 a 3 ($p=0,000244$)

Tab. 42. Średnie wartości skrętu lewej komory w trakcie trwania badania.

Zmienna	ANOVA Friedmana i współczynnik zgodności Kendalla Chi kwad. ANOVA (N = 36 , df 2) =59,20000 p ,00000 Współczynnik zgodności= ,84571 r śred. rang = ,84118			
	Średnia Ranga	Suma Rang	Średnia	Odch.std
SKRĘT BAD 1	1,028571	36,0000	6,61686	3,223016
SKRĘT BAD 2	2,114286	74,0000	9,24400	3,538433
SKRĘT BAD 3	2,857143	100,0000	10,82800	4,454122

Tab. 43. Wyniki testu post hoc HSD Tukeya, określający istotność różnic pomiędzy średnimi grupowymi dla wartości skrętu lewej komory w trakcie badania.

Nr podkl.	Test HSD Tukeya; zmienna DV_1 Przybliżone prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS powt. pomiarów = 2,3309, df = 68,000			
	SKRĘT	1	2	3
1	BADANIE 1	----	0,000112	0,000112
2	BADANIE 2	0,000112	----	0,000244
3	BADANIE 3	0,000112	0,000244	----



Ryc. 29. Wykres ramka-wąsy przedstawiający zmianę wartości skrętu lewej komory w trakcie trwania badania.

5. KORELACJE

W zależności od obecności czynnika ryzyka, z grupy 39 badanych chorych, wydzielono dwie podgrupy:

1. 9 chorych, u których stwierdzono obecność allelu TT w pozycji 235 genu angiotensynogenu.
2. 5 chorych, u których stwierdzono obecność zarówno allelu TT w pozycji 235 genu angiotensynogenu oraz stężenie aldosteronu powyżej wartości referencyjnych (>26 ng/l).

W kolejnym etapie podjęto próbę wytłumaczenia jaki wpływ ma obecność czynnika ryzyka na dynamikę zmian następujących parametrów:

1. NT- pro BNP
2. oceniona w skali punktowej tolerancja wysiłku
3. frakcja wyrzutowa (EF)
4. średnie wartości maksymalnego skurczowego odkształcenia podłużnego
5. skręt
6. średnie wartości odkształcenia okrężnego
7. średnie wartości odkształcenia radialnego
8. średnie wartości rotacji

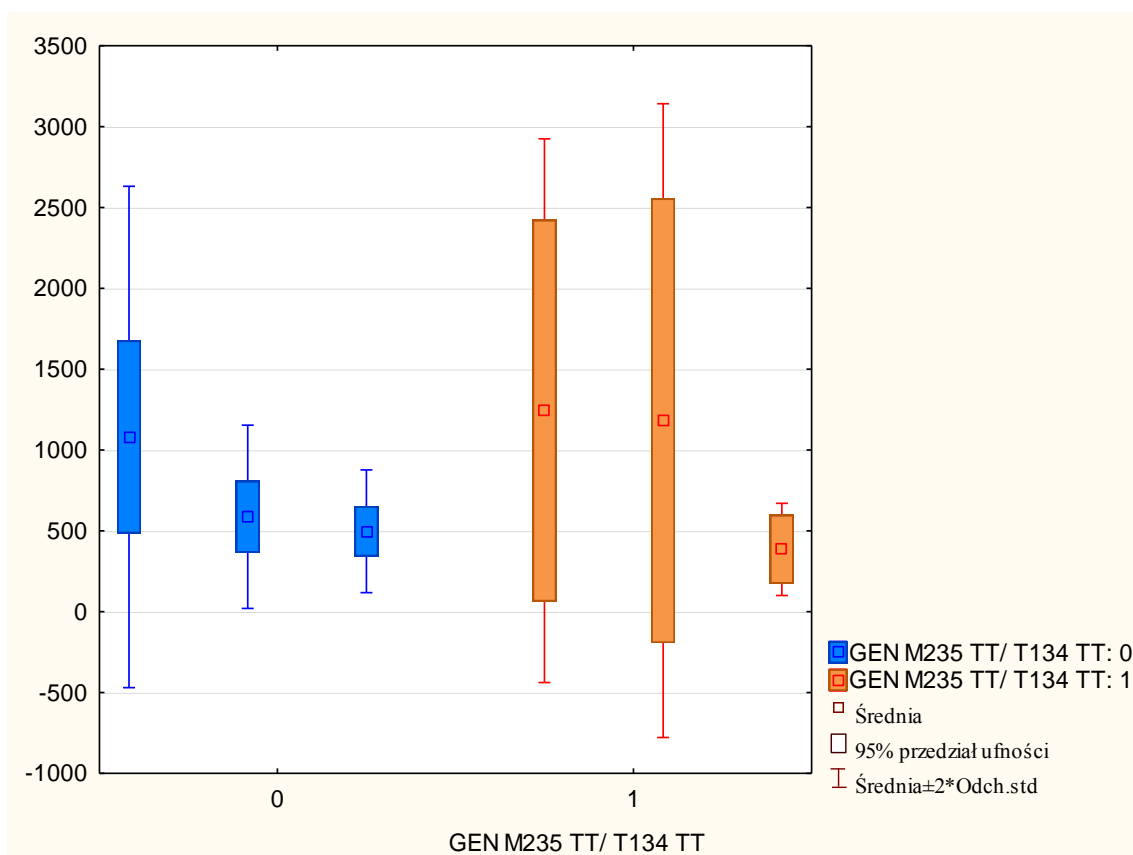
5.1 Wpływ nosicielstwa T235T na oceniane parametry.

5.1.1. Wpływ nosicielstwa T235T na wartości stężeń NT- pro BNP.

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na wartości stężeń NT- pro BNP ($p=0,7806$).

Tab. 44. Ocena wpływu T235T na wartości stężeń NT- pro BNP trakcie badania.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1					
	Parametryzacja z sigma-ograniczeniami					
	Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
NT- pro BNP	Wilksa	0,906767	1,645116	2	32	0,208895
NT- pro BNP*GEN T235 T/ T134T	Wilksa	0,984637	0,249651	2	32	0,780576



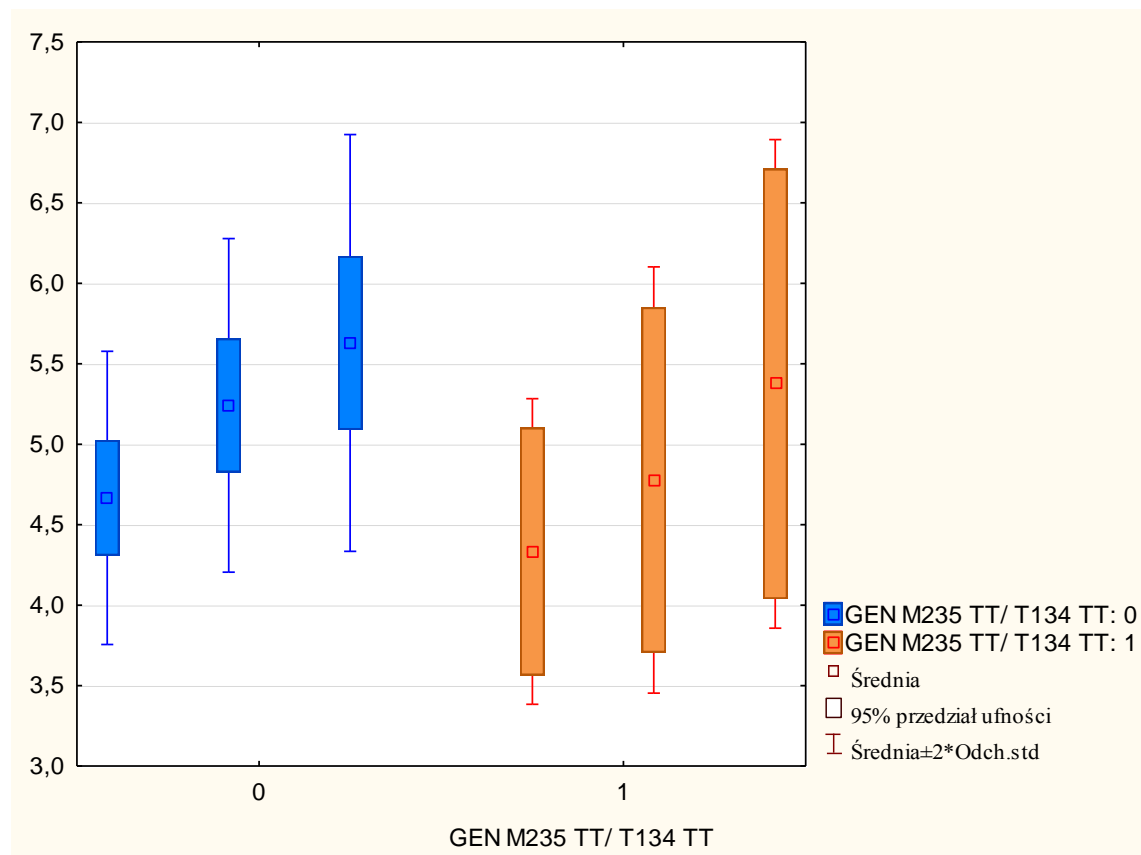
Ryc. 30. Średnie wartości stężeń NT- pro BNP dla poszczególnych wizyt dla grupy nosicieli T235T oraz grupy chorych bez badanego czynnika.

5.1.2. Wpływ nosicielstwa T235T na subiektywnie ocenianą tolerancję wysiłku.

Nosicielstwo T235T nie wpływa na poprawę subiektywnej oceny zdolności do wysiłku ocenianej w skali punktowej ($p=0,846$).

Tab. 45. Wpływ nosicielstwa T235T na subiektywną ocenę zdolności do wysiłku u pacjentów.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
Zdolność do wysiłku	Wilksa	0,751369	5,294477	2	32	0,010319
Zdolność do wysiłku *GEN T235 T/ T134 T	Wilksa	0,989636	0,167567	2	32	0,846457



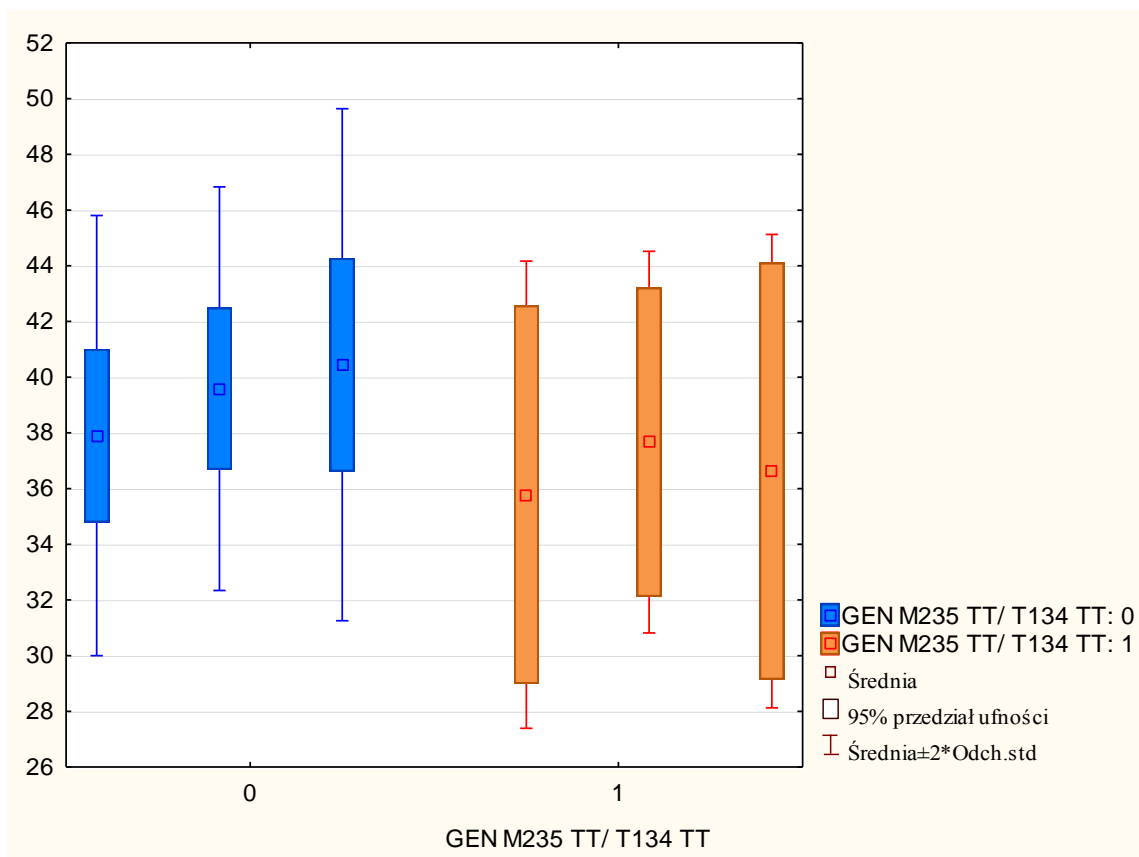
Ryc. 31. Uśrednione wartości punktów przyznawanych w trakcie wizyt dla oceny tolerancji wysiłkowej dla grupy nosicieli T235T oraz grupy chorych bez badanego czynnika.

5.1.3. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości frakcji wyrzutowej.

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na zmianę wartości frakcji wyrzutowej ($p=0,337$).

Tab. 46. Wpływ nosicielstwa T235T na zmianę wartości frakcji wyrzutowej lewej komory.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	p
EF%	42,8213	2	21,41063	2,087746	0,132078
EF%*GEN T235 T/ T134 T	22,7070	2	11,35348	1,107076	0,336583



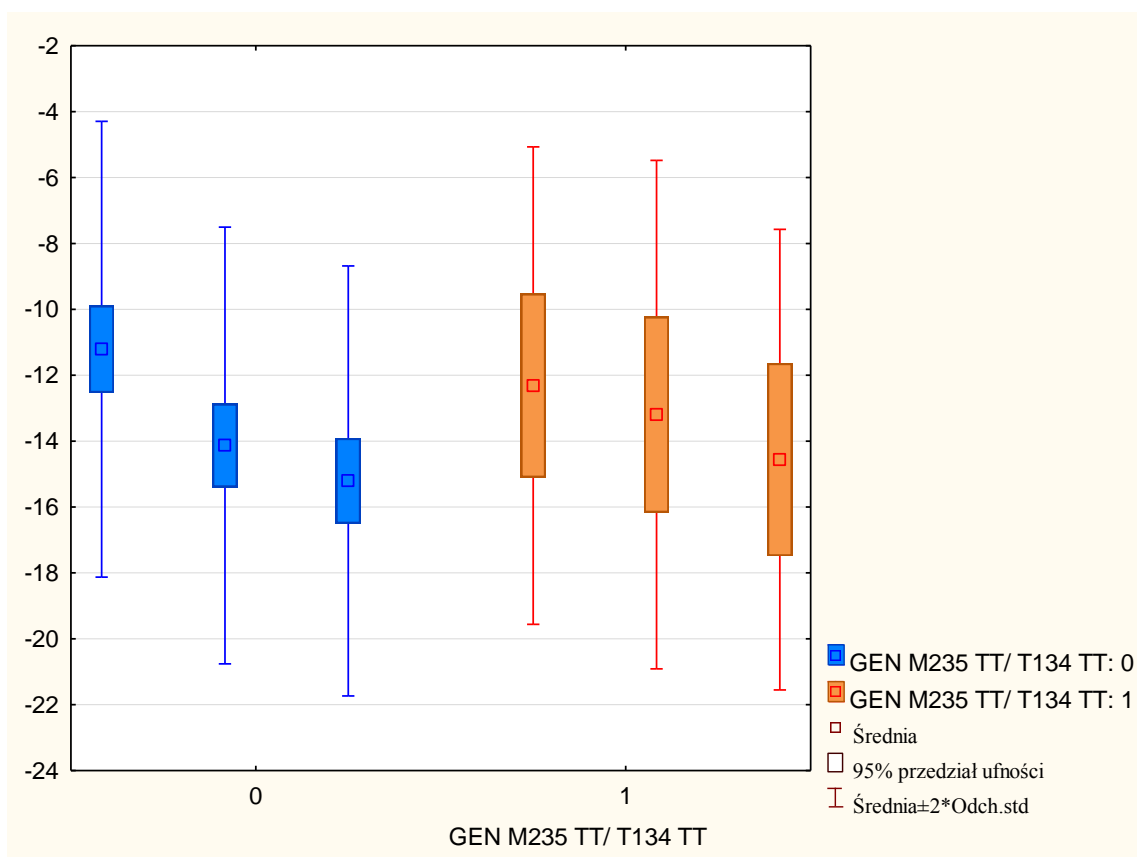
Ryc. 32. Średnie wartości frakcji wyrzutowej dla poszczególnych wizyt w grupie nosicieli T235T oraz grupy chorych bez badanego czynnika ryzyka.

5.1.4. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia podłużnego lewej komory.

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na wartości średniego odkształcenia podłużnego ($p=0,063$).

Tab. 47. Wpływ nosicielstwa T235T na zmianę wartości LGS.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	P
LGS	131,3278	2	65,66391	29,15765	0,000000
LGS *GEN T235T/ T134 T	12,9995	2	6,49976	2,88618	0,062858



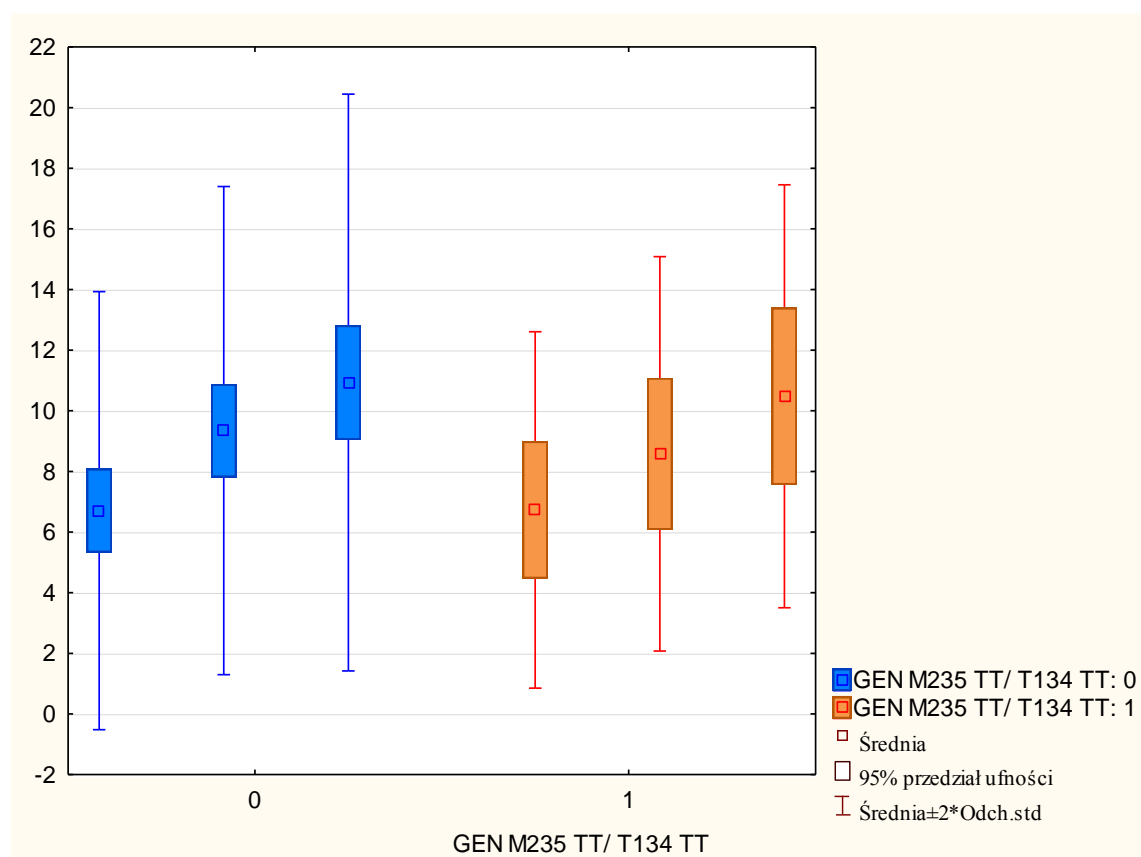
Ryc. 33. Wykres ramka-wąsy prezentujący zmianę wartości LGS dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T oraz pozostali chorzy bez czynnika ryzyka.

5.1.5. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości skrętu lewej komory.

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na zmianę średnich wartości skrętu lewej komory ($p=0,697$).

Tab. 48. Wpływ nosicielstwa T235T na zmianę wartości skrętu.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
SKRĘT	Wilksa	0,309097	35,76362	2	32	0,000000
SKRĘT *GEN T235 T/ T134 T	Wilksa	0,977679	0,36528	2	32	0,696857



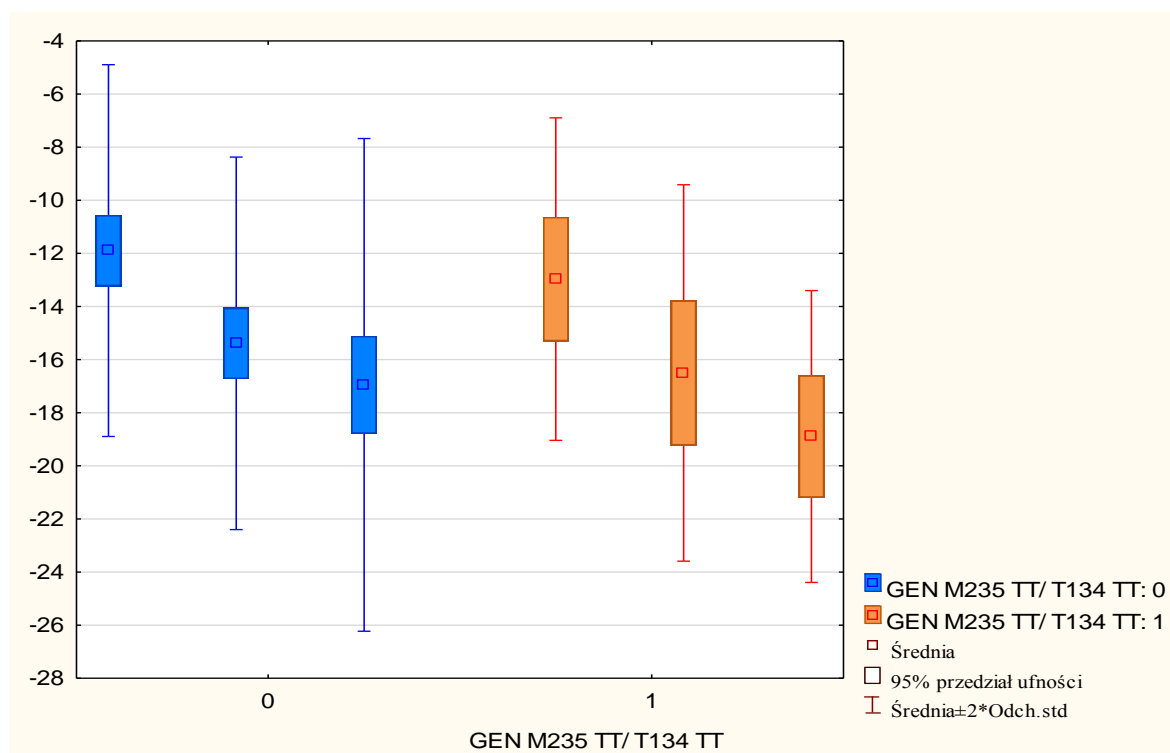
Ryc. 34. Wykres ramka-wąsy prezentujący zmianę wartości skrętu lewej komory dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T oraz pozostali chorzy bez czynnika ryzyka.

5.1.6. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory.

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory ($p=0,922$).

Tab. 49. Wpływ nosicielstwa T235T na MV-C.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1				
	Parametryzacja z sigma-ograniczeniami				
	Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	p
MV-C	403,4485	2	201,7243	31,33968	0,000000
MV-C* GEN T235 T/ T134 T	1,0482	2	0,5241	0,08143	0,921893



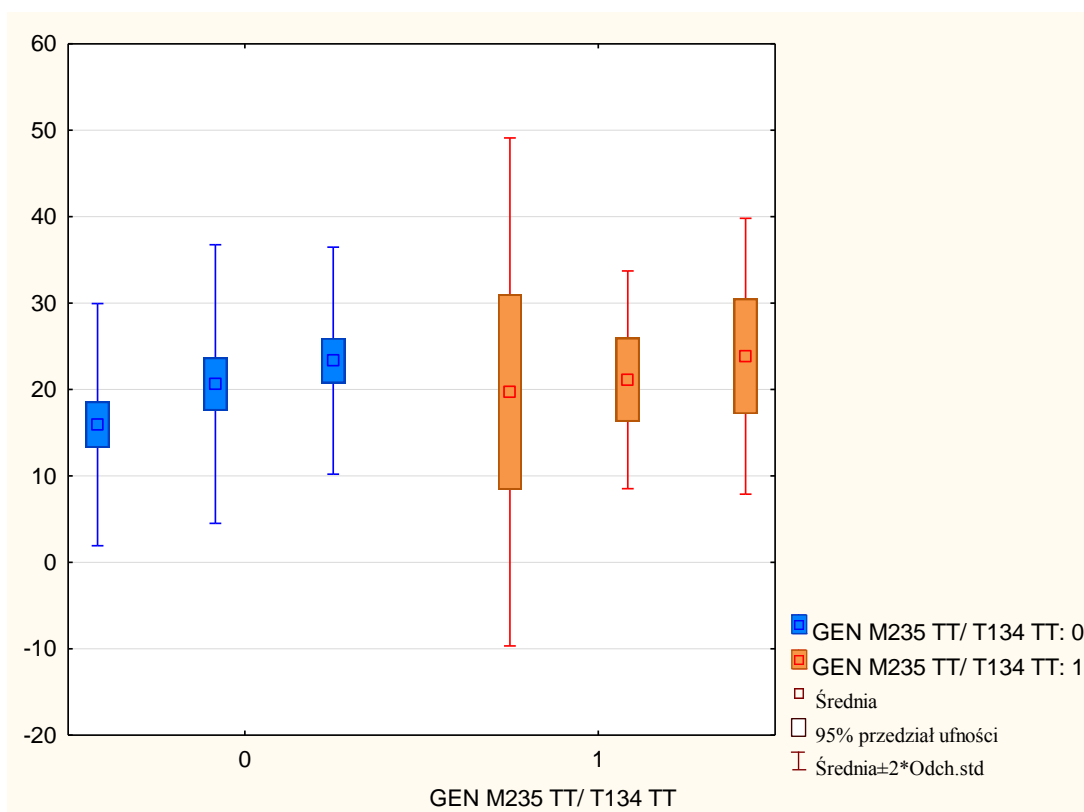
Ryc. 35. Wykres ramka-wąsy prezentujący wartości MV-C dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T oraz pozostali chorzy bez czynnika ryzyka.

5.1.7. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie zastawki mitralnej ($p=0,826$).

Tab. 50. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości MV-RA.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	p
MV-RA	Wilksa	0,616965	9,933392	2	32	0,000441
MV-RA* GEN T235 T/ T134 T	Wilksa	0,988097	0,192744	2	32	0,825643



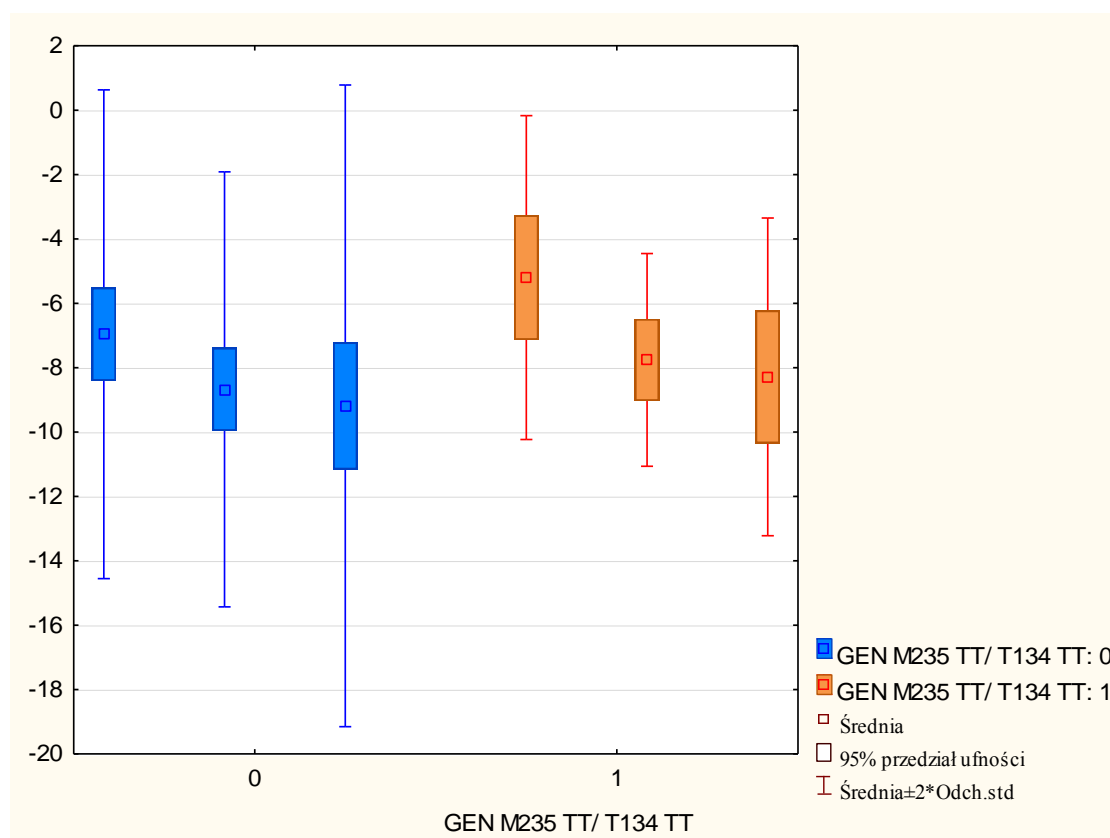
Ryc. 36. Wykres ramka-wąsy prezentujący zmianę wartości MV-RA dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T oraz pozostali chorzy bez czynnika ryzyka.

5.1.8. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej lewej komory.

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na średnie wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej lewej komory ($p=0,974$).

Tab. 51. Wpływ nosicielstwa T235T na MV-RO.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
MV- RO	Wilksa	0,692254	7,112888	2	32	0,002781
MV- RO* GEN T235 T/ T134 T	Wilksa	0,998385	0,025887	2	32	0,974466



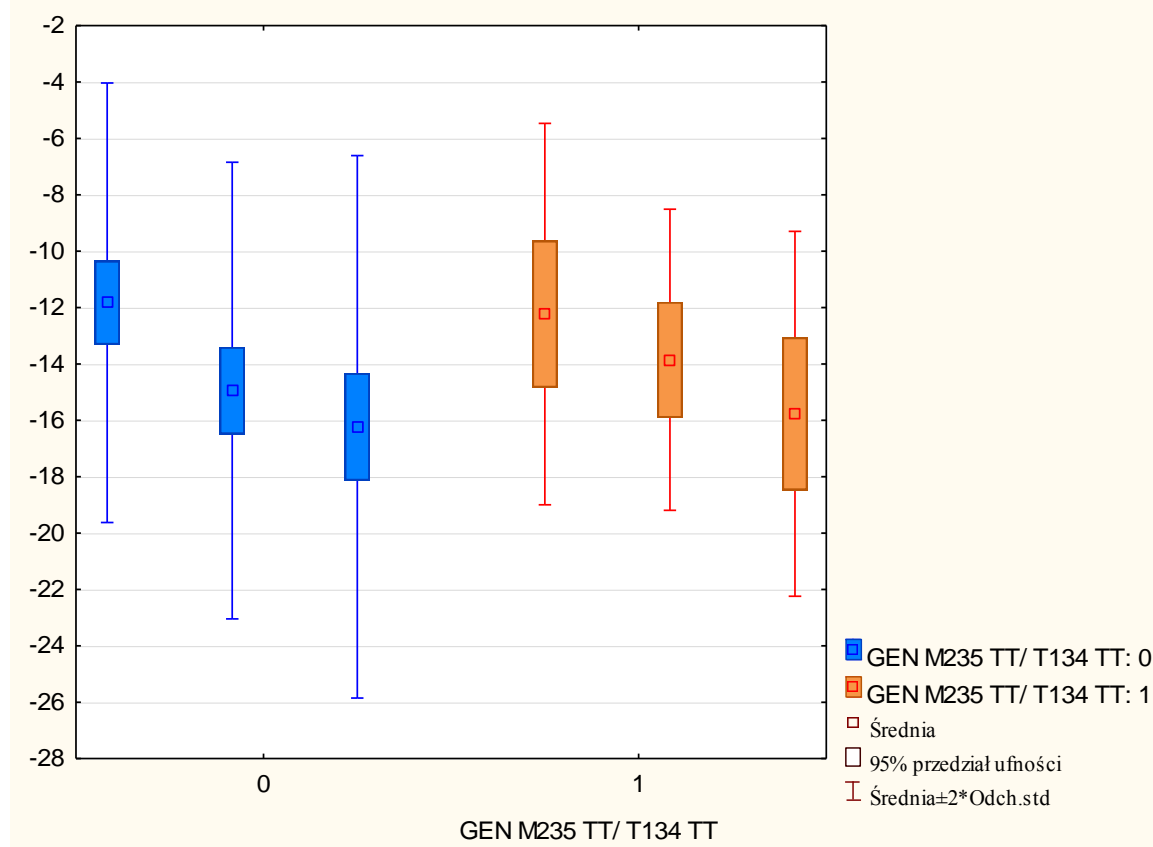
Ryc. 37. Wykres ramka-wąsy prezentujący zmianę wartości MV-RO dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T oraz pozostali chorzy bez czynnika ryzyka

5.1.9. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory.

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory ($p=0,638$).

Tab. 52. Analiza wpływu nosicielstwa T235T na wartości PM-C.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	P
PM-C	200,9389	2	100,4695	12,53423	0,000024
PM-C* GEN T235 T/ T134 T	7,2627	2	3,6313	0,45303	0,637659



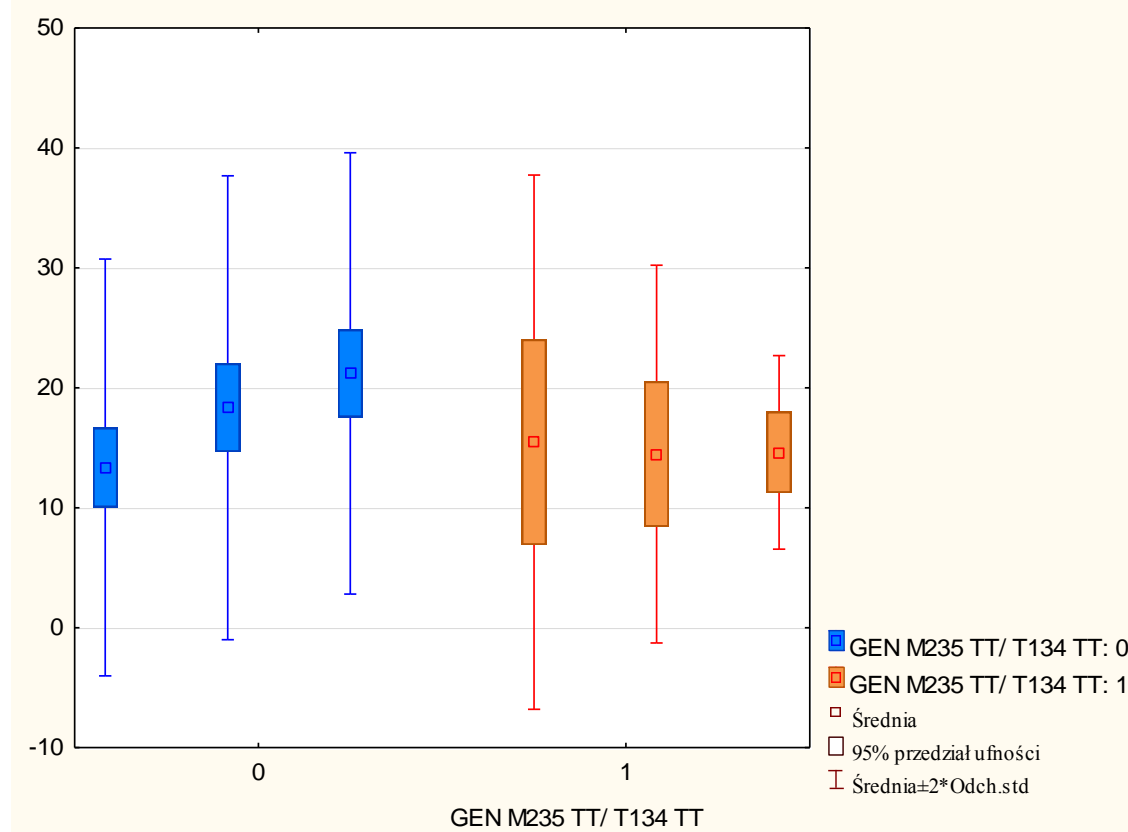
Ryc. 38. Wykres ramka-wąsy prezentujący zmianę wartości PM-C dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T oraz pozostali chorzy bez czynnika ryzyka.

5.1.10. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory.

Nosicielstwo T235T wpływa istotnie na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory ($p=0,028$).

Tab. 53. Analiza wpływu T235T na średnie wartości PM-RA.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	P
PM-RA	277,496	2	138,7478	3,956291	0,023837
PM-RA* GEN T235 T/ T134 T	265,823	2	132,9115	3,789872	0,027665



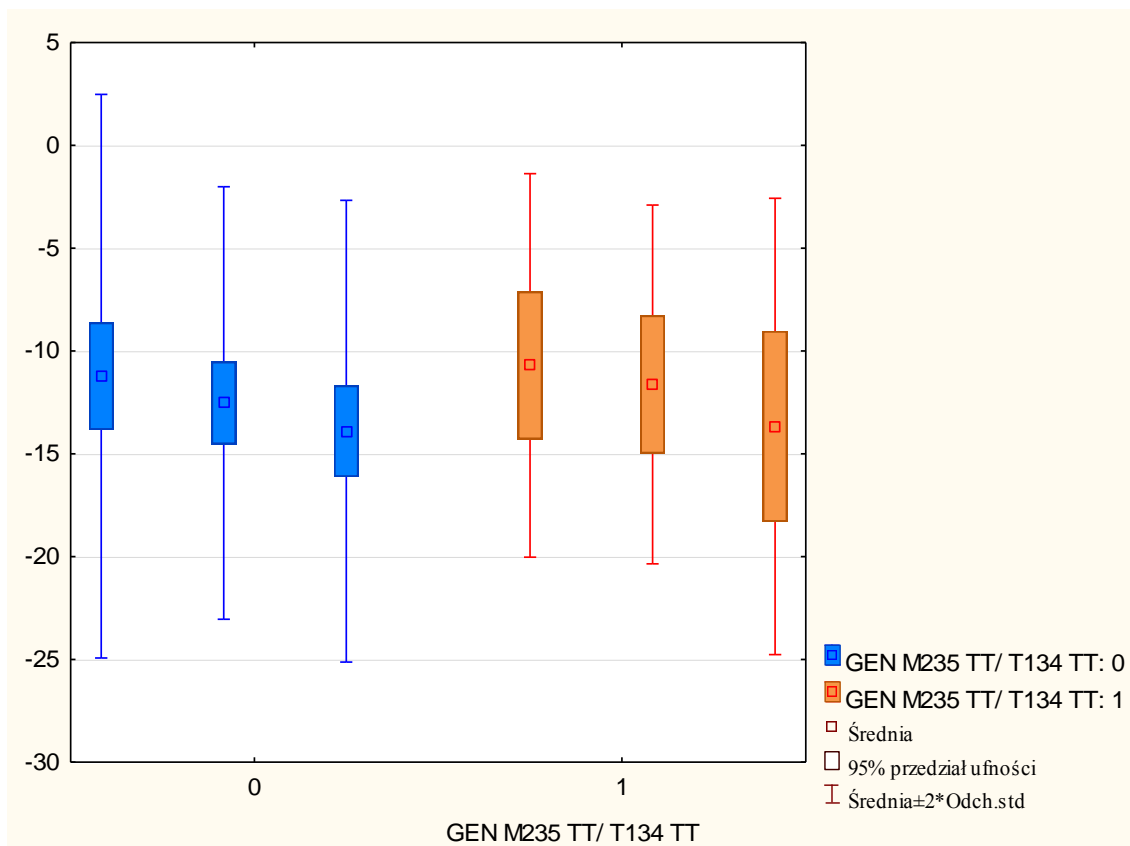
Ryc. 39. Wykres ramka-wąsy prezentujący zmianę wartości PM-RA dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T oraz pozostali chorzy bez czynnika ryzyka.

5.1.11. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka lewej komory.

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka lewej komory ($p=0,850$).

Tab. 54. Analiza wpływ T235T na średnie wartości AP- C.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	p
AP- C	109,1183	2	54,55916	4,027240	0,022375
AP- C* GEN T235 T/ T134 T	4,4017	2	2,20086	0,162454	0,850394



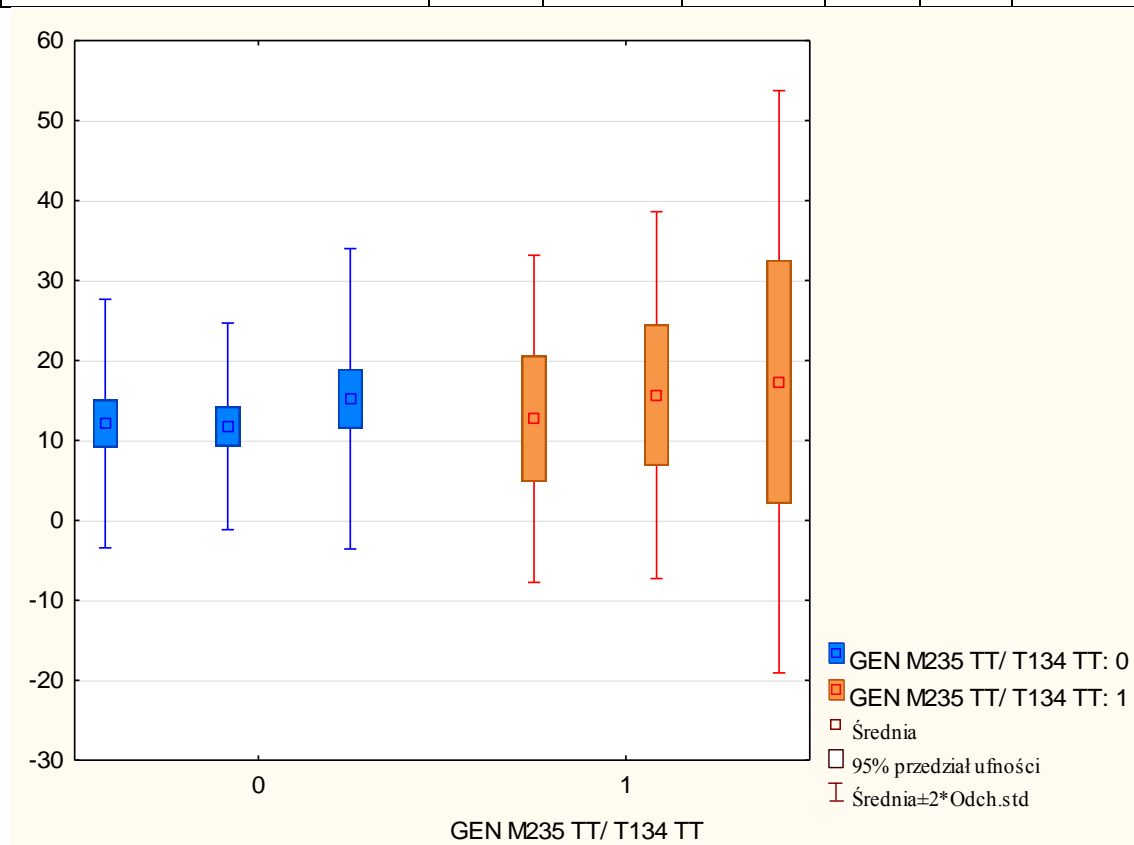
Ryc. 40. Wykres ramka-wąsy prezentujący zmianę wartości AP- C dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T oraz pozostali chorzy bez czynnika ryzyka.

5.1.12. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie koniuszka lewej komory

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie koniuszka lewej komory ($p=0,327$).

Tab. 55. Analiza wpływu T235T na średnie wartości AP- RA.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
AP- RA	Wilksa	0,941377	0,996371	2	32	0,380382
AP- RA* GEN T235 T/ T134 T	Wilksa	0,932576	1,156787	2	32	0,327299



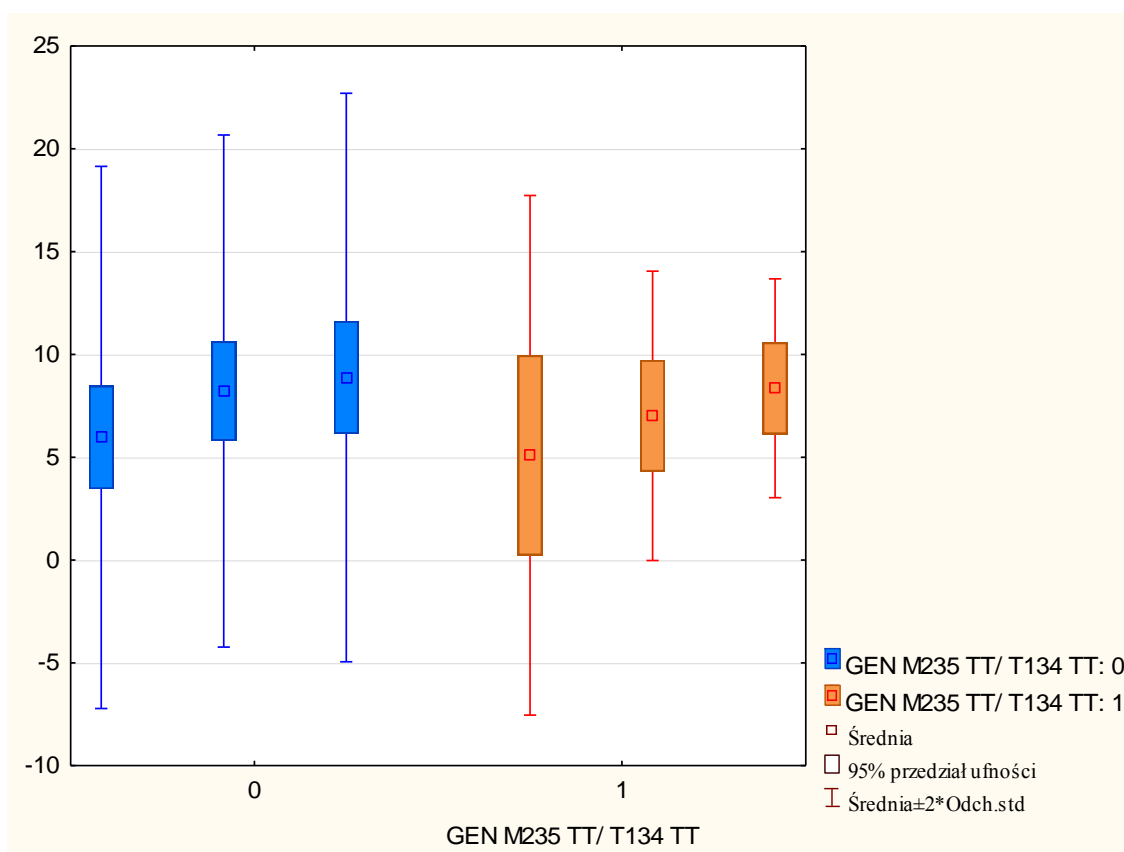
Ryc. 41. Wykres ramka-wąsy prezentujący zmianę wartości AP- RA dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T oraz pozostali chorzy bez czynnika ryzyka.

5.1.13. Wpływ nosicielstwa T235T na średnie wartości rotacji na poziomie koniuszka lewej komory

Nosicielstwo T235T nie wpływa istotnie na średnie wartości rotacji na poziomie koniuszka lewej komory ($p=0,985$).

Tab. 56. Analiza wpływu T235T na średnie wartości AP- RO.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1				
	Parametryzacja z sigma-ograniczeniami				
	Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	p
AP- RO	133,690	2	66,84477	3,108595	0,051472
AP- RO* GEN T235 T/ T134 T	0,662	2	0,33084	0,015385	0,984736



Ryc. 42. Wykres ramka-wąsy prezentujący zmianę wartości AP- RO dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T oraz pozostali chorzy bez czynnika ryzyka.

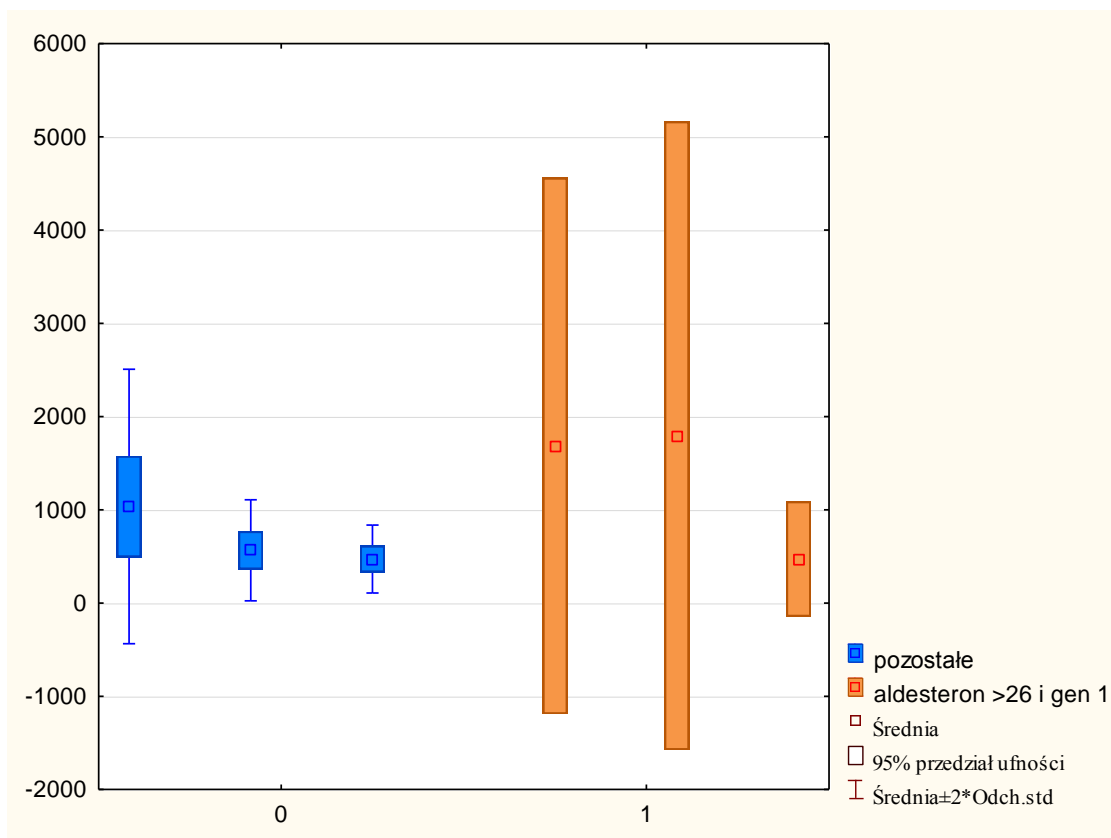
5.2. Wpływ podwyższonego stężenia aldosteronu i nosicielstwa T235T na badane parametry

5.2.1. Wpływ nosicielstwa T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę stężeń NT- pro BNP

Podwyższone stężenie aldosteronu i nosicielstwo genu T235T nie wpływają istotnie na zmianę stężeń NT- pro BNP ($p=0,810$).

Tab. 57. Analiza wpływu nosicielstwa T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę stężeń NT- pro BNP.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
NT- pro BNP	Wilksa	0,949877	0,844278	2	32	0,439219
NT- pro BNP* 1 - aldosteron >26 i genotyp T235T ; 0 - pozostałe	Wilksa	0,986944	0,211661	2	32	0,810363



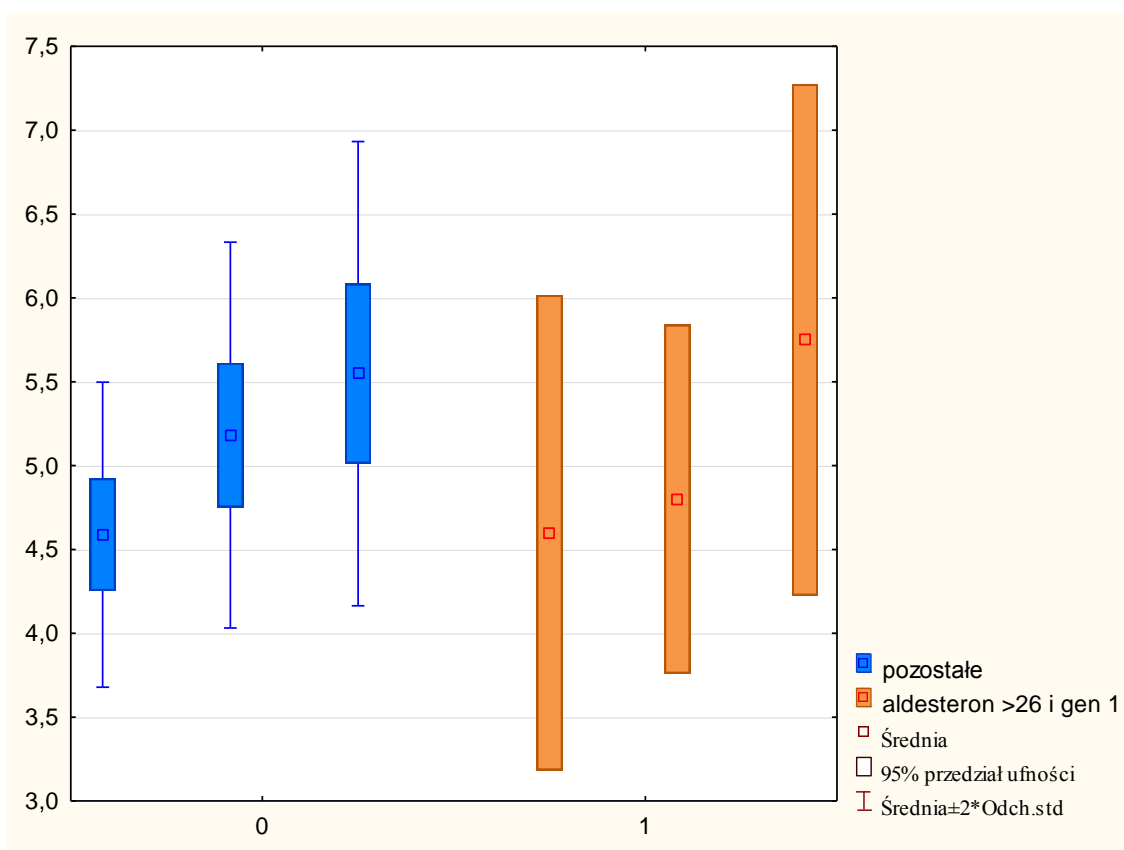
Ryc. 43. Wykres prezentujący zmianę wartości NT- pro BNP dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczym stężeniem aldosteronu z jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.2. Wpływ nosicielstwa T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na subiektywną ocenę tolerancji wysiłkowej.

Podwyższone stężenie osocze aldosteronu i nosicielstwo T235T nie wpływają istotnie na subiektywnie ocenianą przez chorych zdolność do wysiłku ($p=0,408$).

Tab. 58. Analiza wpływu nosicielstwa T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na subiektywną ocenę zdolności do wysiłku.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez				
	Test	P	F	Efekt df	Błąd df
Ocena tolerancji wysiłku	Wilksa	0,867591	2,441862	2	32
Ocena tolerancji wysiłku *1 - aldosteron >26 i genotyp T235T ; 0 - pozostałe	Wilksa	0,945543	0,921498	2	32



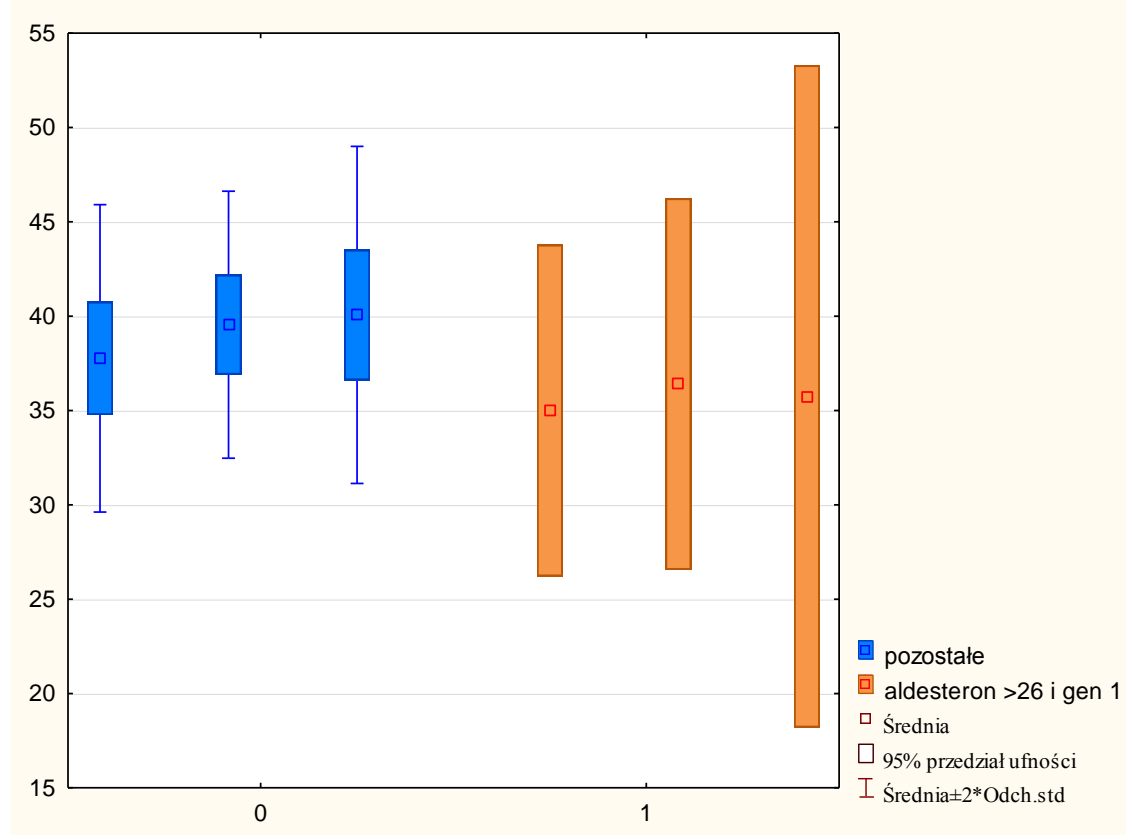
Ryc. 44. Wykres prezentujący zmiany w subiektywnej ocenie tolerancji wysiłkowej pacjentów, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczym stężeniem aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.3. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę wartości frakcji wyrzutowej lewej komory.

Podwyższone stężenie aldosteronu i nosicielstwo T235T nie wpływają istotnie na średnią wartość frakcji wyrzutowej lewej komory ($p=0,696$).

Tab. 59. Analiza wpływu nosicielstwa T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę wartości frakcji wyrzutowej.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	P
EF%	17,6508	2	8,82542	0,841816	0,435501
EF%*1 - aldosteron >26 i genotyp T235T ; 0 - pozostałe	7,6318	2	3,81590	0,363981	0,696291



Ryc. 45. Wykres prezentujący zmianę wartości EF dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczkowym stężeniem

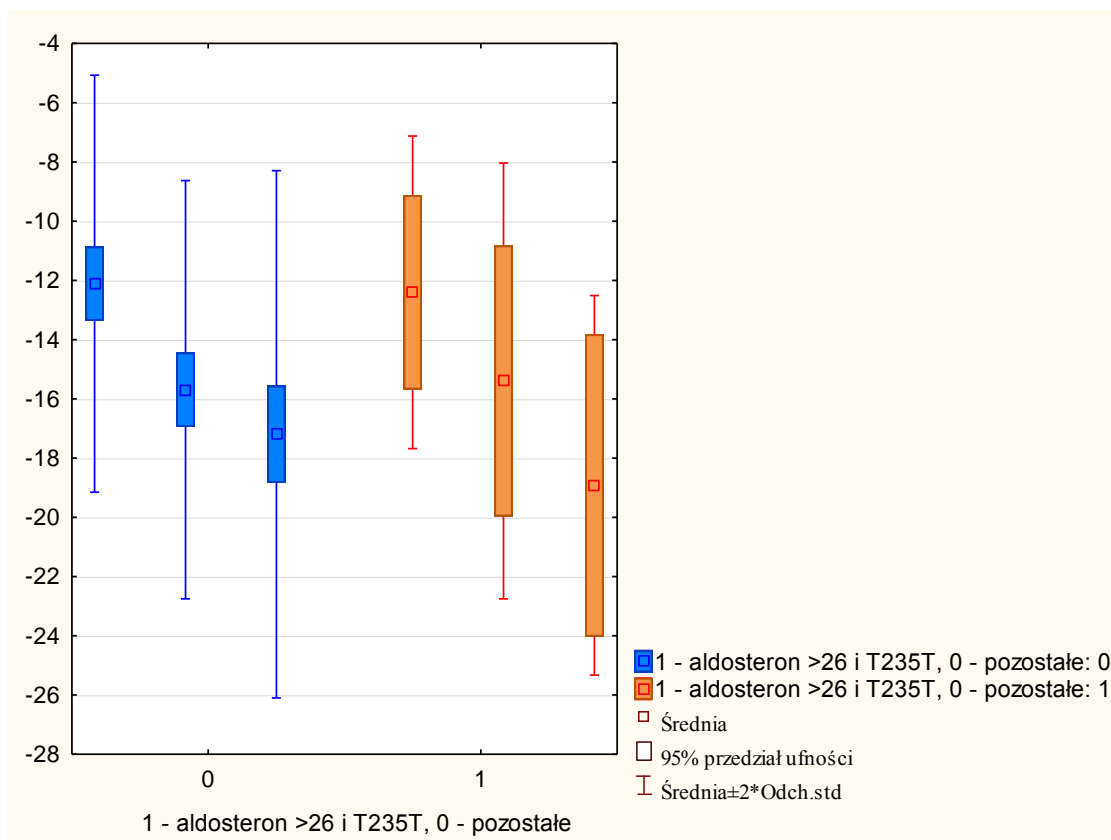
aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.4. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory.

Nosicielstwo T235T oraz jednocześnie podwyższone stężenie osoczowe aldosteronu nie wpływają istotnie na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory ($p=0,922$).

Tab. 60. Analiza wpływu nosicielstwa T235T oraz równocześnie, podwyższonego stężenia aldosteronu na wartości MV-C.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	P
MV-C	255,5489	2	127,7745	20,06560	0,000000
MV-C*1 - aldosteron >26 i genotyp T235T ; 0 - pozostałe	5,5936	2	2,7968	0,43921	0,646415



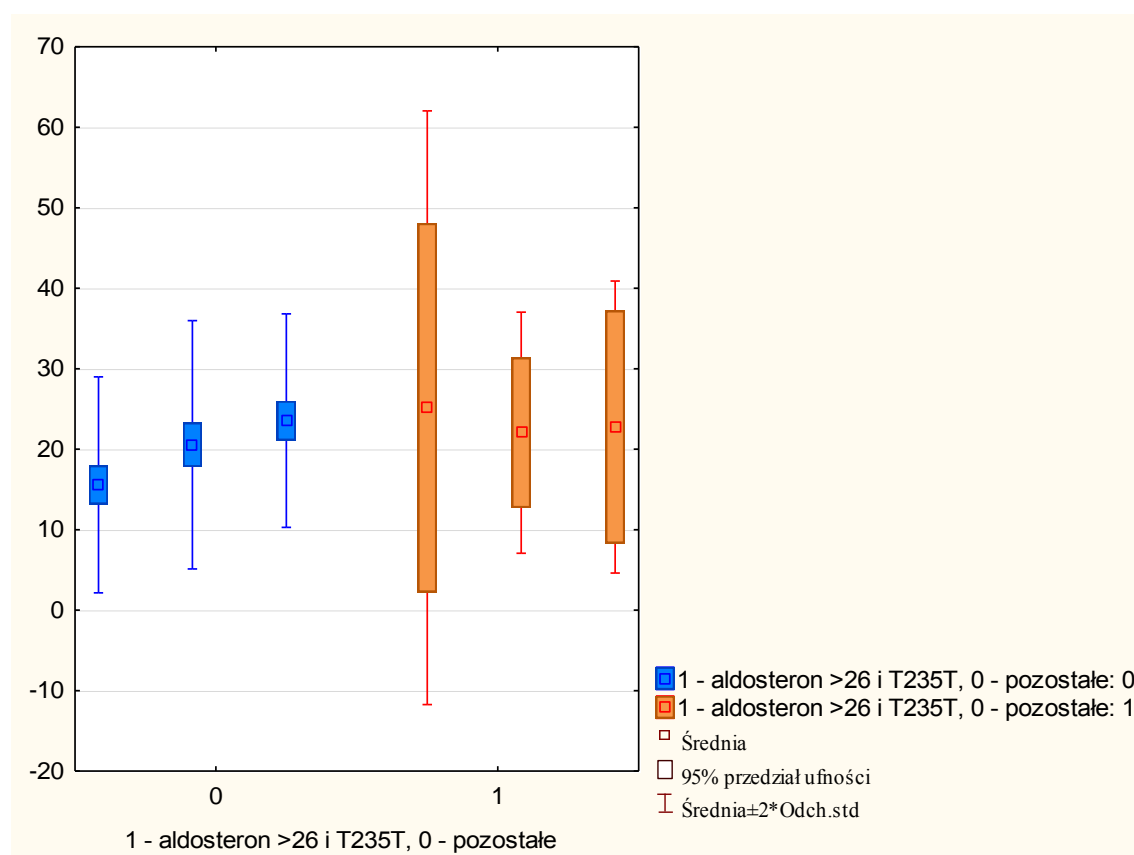
Ryc. 46. Wykres prezentujący zmianę wartości MV- C dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczym stężeniem aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.5. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia radialnego poziomie zastawki mitralnej lewej komory.

Nosicielstwo T235T oraz jednocześnie podwyższone stężenie osocze aldosteronu nie wpływają istotnie na wartości odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory ($p=0,207$).

Tab. 61. Analiza wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na wartości MV- RA.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
MV-RA	Wilksa	0,809808	3,757781	2	32	0,034207
MV-RA*1 - aldosteron >26 i T235T, 0 - pozostałe	Wilksa	0,906283	1,654524	2	32	0,207121



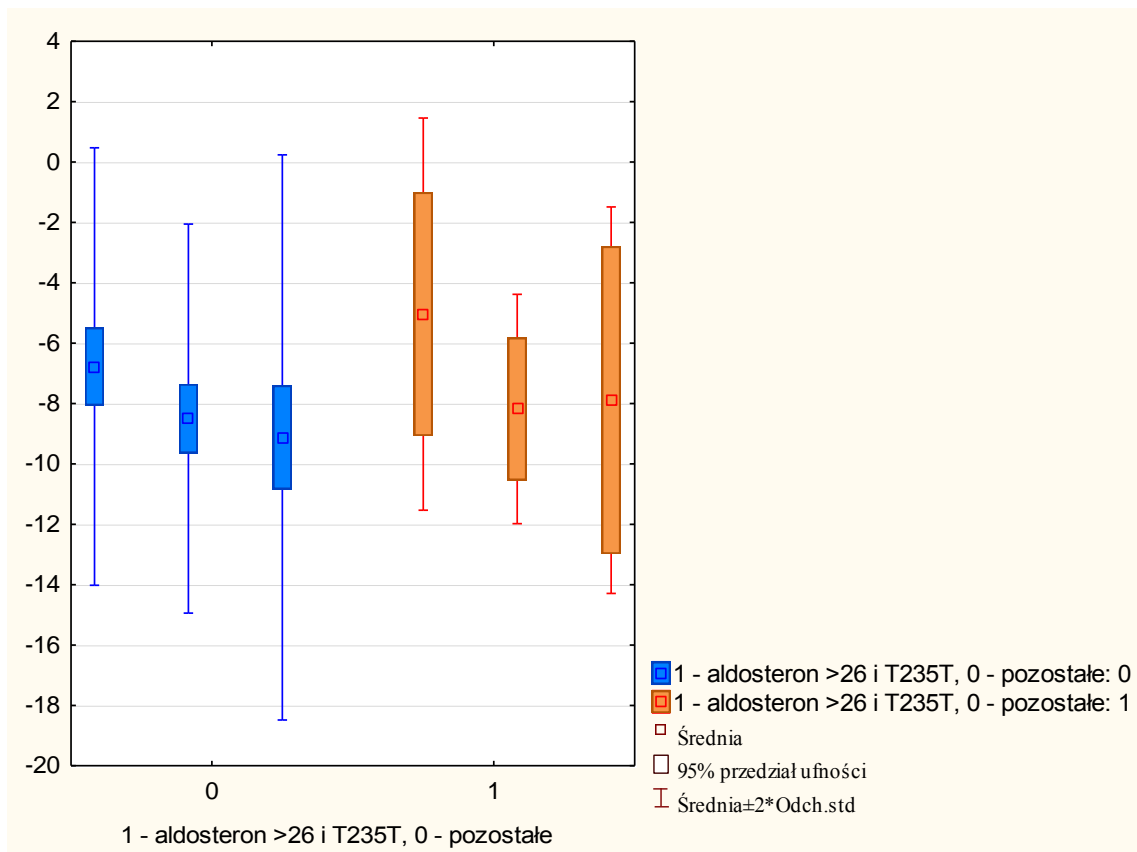
Ryc. 47. Wykres prezentujący zmianę wartości MV- RA dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczowym stężeniem aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.6. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej lewej komory.

Nosicielstwo T235T oraz jednocześnie podwyższone stężenie osoczowe aldosteronu nie wpływają istotnie na średnie wartości rotacji na poziomie zastawki mitralnej lewej komory ($p=0,909$).

Tab. 62. Analiza wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na wartości MV- RO.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
MV-RO	Wilksa	0,839258	3,064460	2	32	0,060580
MV-RO*1 - aldosteron >26 i T235T, 0 – pozostałe	Wilksa	0,994079	0,095300	2	32	0,909357



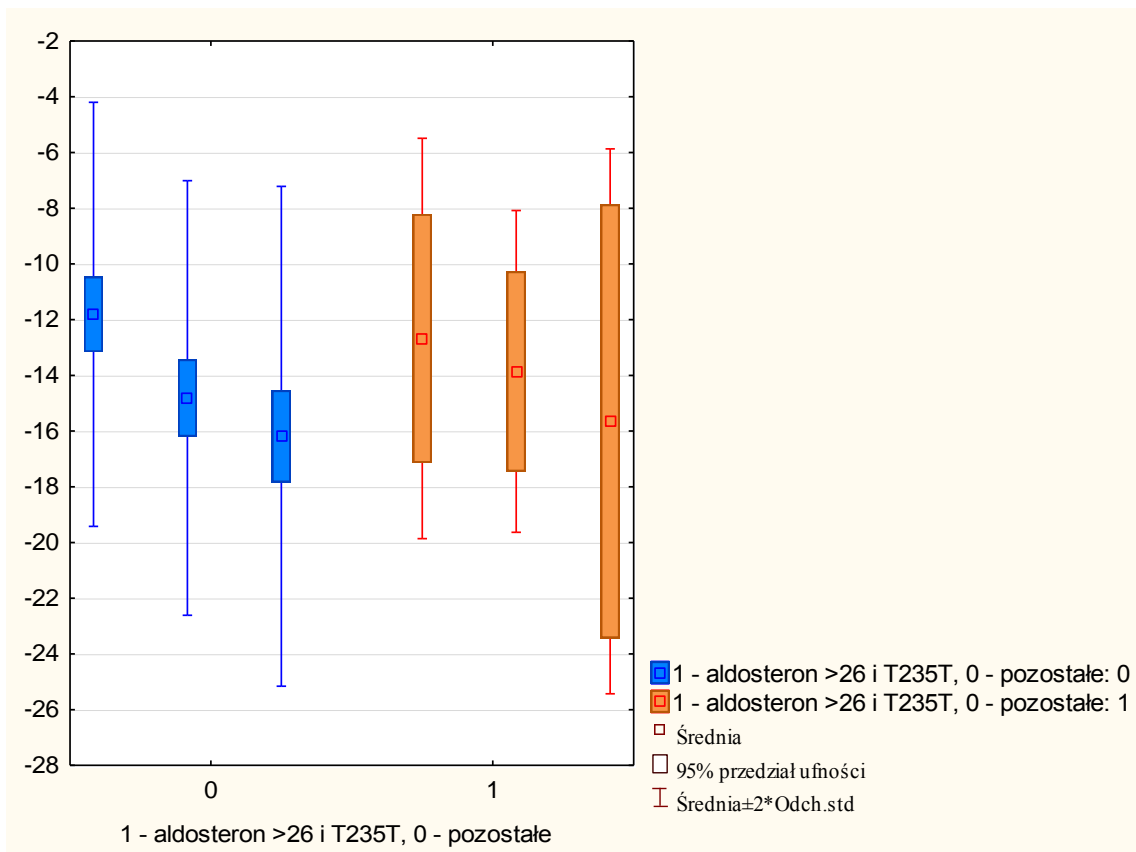
Ryc. 48. Wykres prezentujący zmianę wartości MV- RO dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczym stężeniem aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.7. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia okrężnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory

Nosicielstwo T235T oraz jednocześnie podwyższone stężenie osocze aldosteronu nie wpływają istotnie na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory ($p=0,633$).

Tab. 63. Analiza wpływu nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na wartości PM-C.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
PM-C	Wilksa	0,776353	4,609176	2	32	0,017416
PM-C*1 - aldosteron >26 i T235T, 0 - pozostałe	Wilksa	0,971846	0,463521	2	32	0,633223



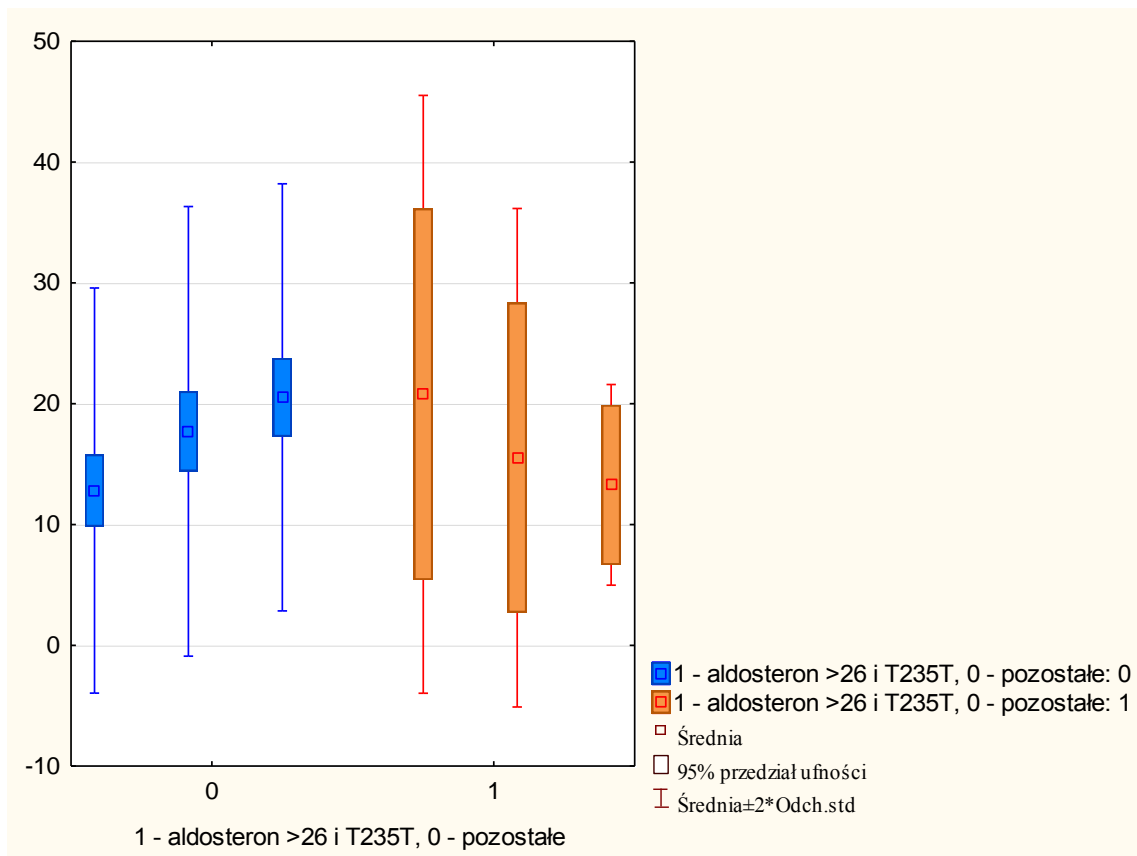
Ryc. 49. Wykres prezentujący zmianę wartości PM- C dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczym stężeniem aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.8. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory

Nosicielstwo T235T oraz jednocześnie podwyższone stężenie osoczowe aldosteronu wpływają istotnie na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory($p=0,0013$).

Tab. 64. Analiza wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na PM-RA.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	P
PM-RA	33,019	2	16,5096	0,516369	0,599074
PM-RA*1 - aldosteron >26 i T235T, 0 - pozostałe	470,267	2	235,1337	7,354242	0,001308



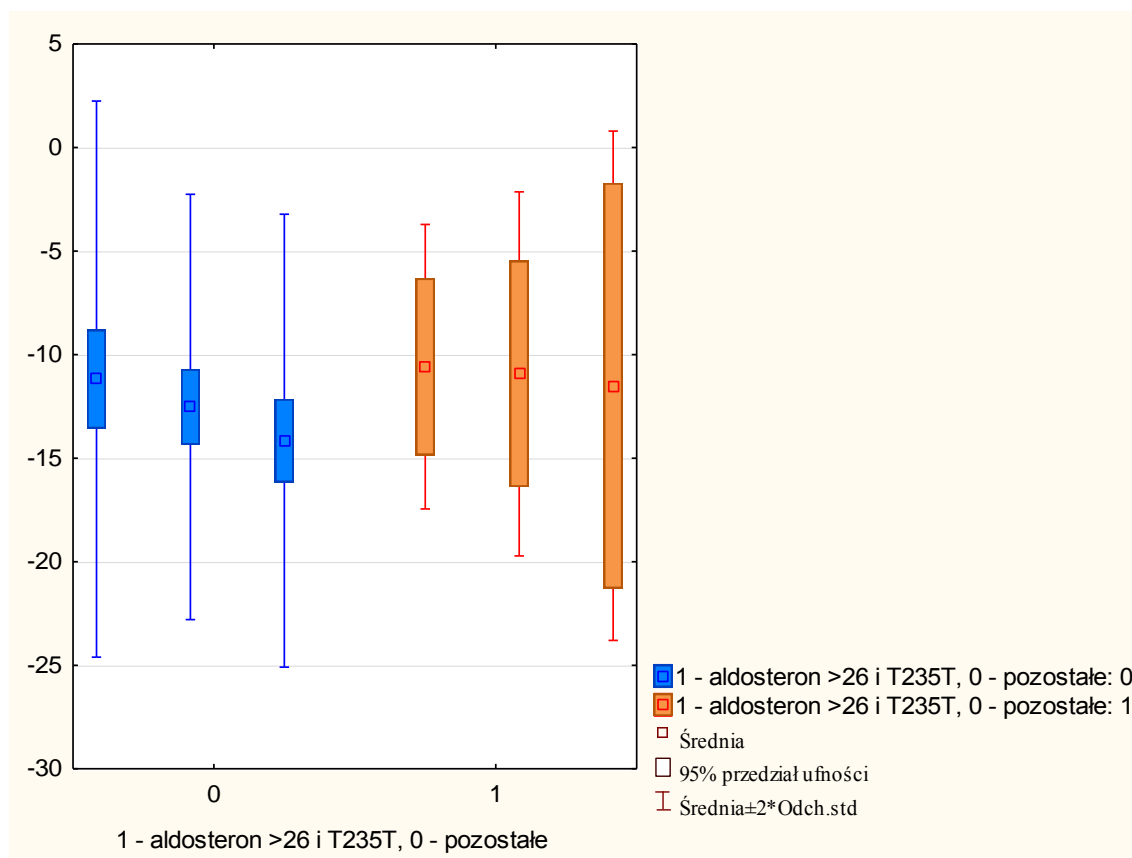
Ryc. 50. Wykres prezentujący zmianę wartości PM- RA dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczym stężeniem aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.9. Wpływ nosicielstwa T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka lewej komory.

Nosicielstwo T235T oraz jednocześnie podwyższone stężenie osocze aldosteronu nie wpływają istotnie na średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka lewej komory ($p=0,930$).

Tab. 65. Analiza wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na wartości AP-C .

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1				
	Parametryzacja z sigma-ograniczeniami				
	Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	P
AP-C	39,6429	2	19,82144	1,459152	0,239833
AP-C*1 - aldosteron >26 i T235T, 0 - pozostałe	1,9807	2	0,99034	0,072904	0,929765



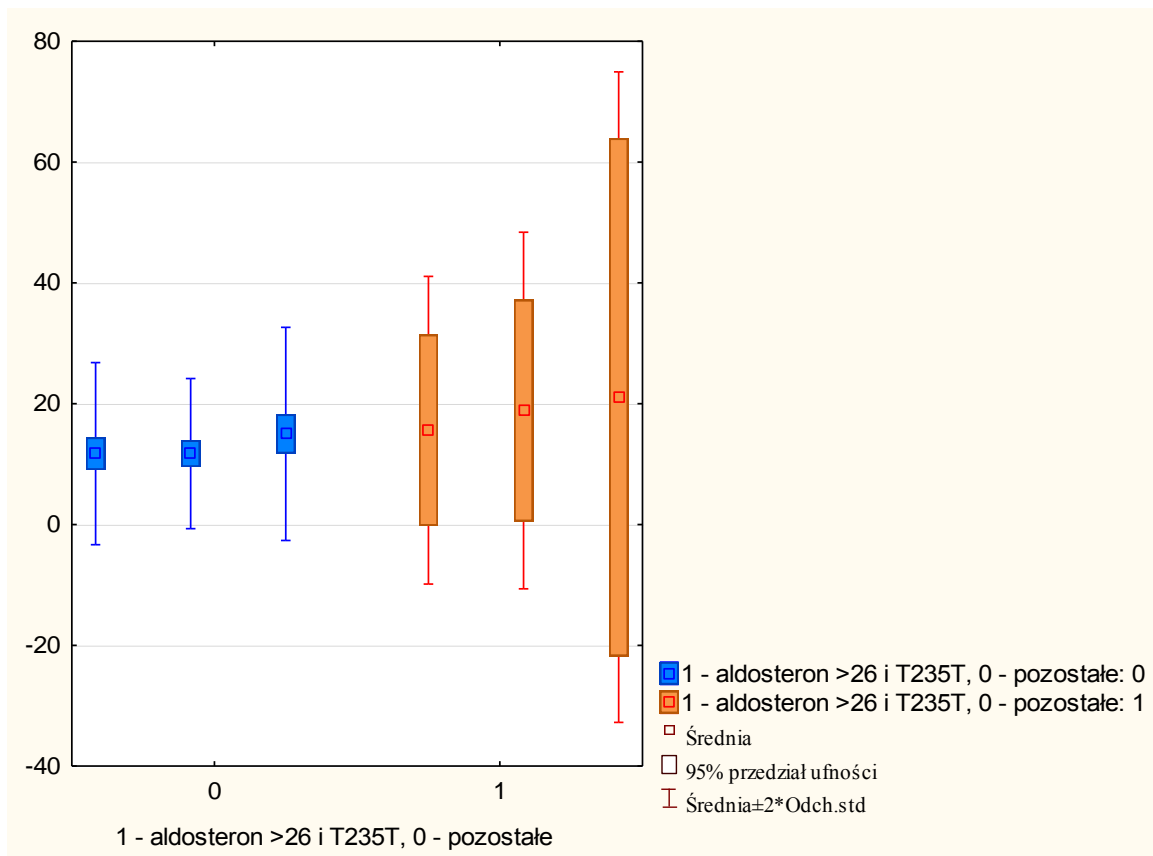
Ryc. 51. Wykres prezentujący zmianę wartości AP- C dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczkowym stężeniem aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.10. Wpływ nosicielstwa T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia radialnego na poziomie koniuszka lewej komory.

Nosicielstwo T235T oraz jednocześnie podwyższone stężenie osoczowe aldosteronu nie wpływają istotnie na średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie koniuszka lewej komory ($p=0,421$).

Tab. 66. Analiza wpływ nosicielstwa T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na wartości AP- RA.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
AP- RA	Wilksa	0,958742	0,688537	2	32	0,509598
AP- RA*1 - aldosteron >26 i T235T, 0 - pozostałe	Wilksa	0,947384	0,888613	2	32	0,421130



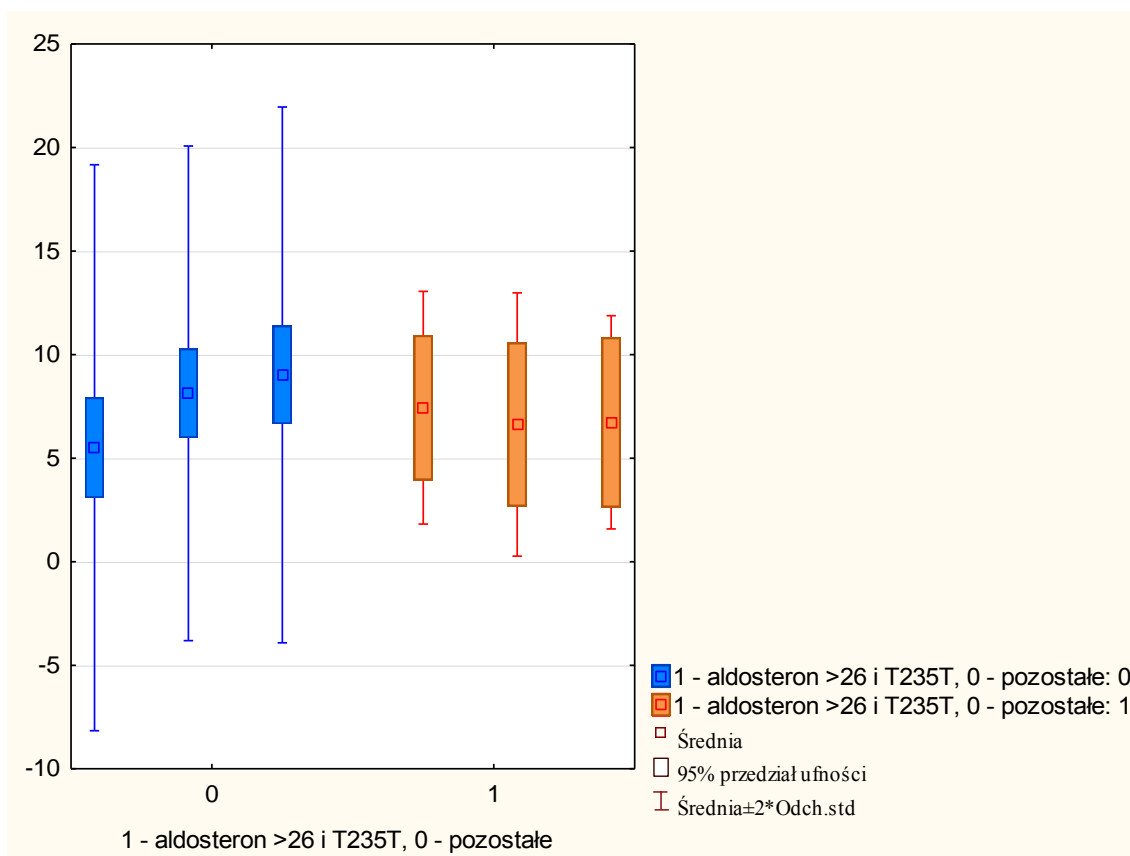
Ryc. 52. Wykres prezentujący zmianę wartości AP- RA dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczym stężeniem aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.11. Wpływ nosicielstwa genu T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości rotacji na poziomie koniuszka lewej komory.

Nosicielstwo T235T oraz jednocześnie podwyższone stężenie osocze aldosteronu nie wpływają istotnie na średnie wartości rotacji na poziomie koniuszka lewej komory ($p=0,328$).

Tab. 67. Analiza wpływ nosicielstwa genu T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na AP-RO.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1				
	Parametryzacja z sigma-ograniczeniami				
	Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	p
AP- RO	12,516	2	6,25822	0,301220	0,740958
AP- RO*1 - aldosteron >26 i T235T, 0 - pozostałe	47,188	2	23,59391	1,135620	0,327609



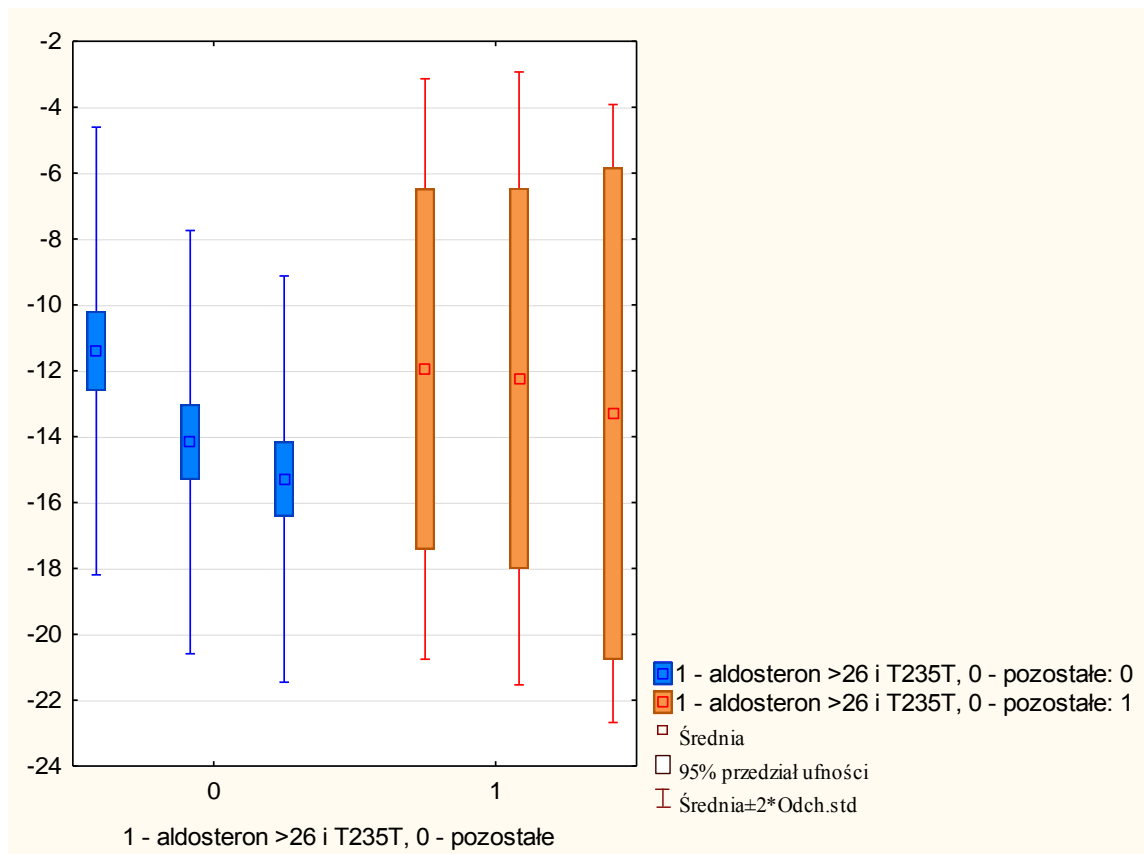
Ryc. 53. Wykres prezentujący zmianę wartości AP- RO, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczym stężeniem aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.12. Wpływ nosicielstwa T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości odkształcenia podłużnego lewej komory.

Nosicielstwo T235T oraz jednocześnie podwyższone stężenie osoczowe aldosteronu nie wpływają istotnie na średnie wartości odkształcenia podłużnego lewej komory ($p=0,0817$).

Tab. 68. Analiza wpływ nosicielstwa T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na LGS- AVG.

Efekt	Jednowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez				
	SS	Stopnie swobody	MS	F	P
	LGS- AVG	55,9692	2	27,98459	12,32822
LGS- AVG*1 - aldosteron >26 i T235T, 0 – pozostałe	11,8161	2	5,90804	2,60270	0,081662



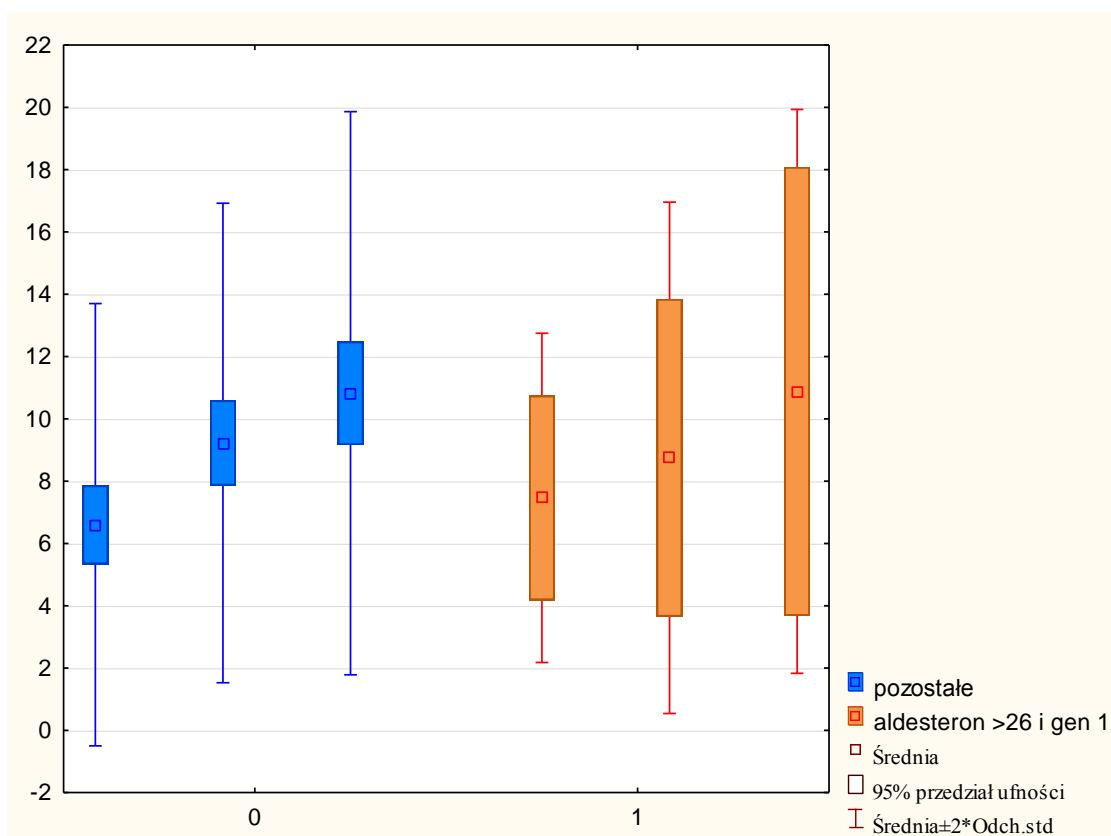
Ryc. 54. Wykres prezentujący zmianę wartości LGS- AVG dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: chorzy z podwyższonym osoczym stężeniem aldosteronu i jednoczesnym nosicielstwem T235T oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

5.2.13. Wpływ nosicielstwa T235T oraz podwyższonego stężenia aldosteronu na zmianę średniej wartości skrętu lewej komory.

Podwyższone stężenie aldosteronu i nosicielstwo T235T nie wpływają istotnie na średnie wartości skrętu lewej komory ($p=0,522$).

Tab . 69. Analiza wpływ nosicielstwa T235T oraz równocześnie podwyższonego stężenia aldosteronu na wartości skrętu lewej komory.

Efekt	Wielowymiarowe testy dla powtarzanych pomiarów: DV_1 Parametryzacja z sigma-ograniczeniami Dekompozycja efektywnych hipotez					
	Test	Wartość	F	Efekt df	Błąd df	P
SKRĘT	Wilksa	0,472646	17,85199	2	32	0,000006
SKRĘT*1 - aldosteron >26 i genotyp=1 0 - pozostałe	Wilksa	0,960239	0,66251	2	32	0,522482



Ryc. 55. Wykres ramka-wąsy prezentujący zmianę wartości skrętu dla poszczególnych wizyt, z uwzględnieniem podziału na 2 grupy: nosiciele T235T z jednocześnie podwyższonym odczynem aldosteronu oraz pozostali chorzy bez czynników ryzyka.

6. PODSUMOWANIE WYNIKÓW

W zależności od czasu w jakim następowała poprawa obserwowanych parametrów, wyszczególniono 3 grupy:

1. Wczesna poprawa, pomiędzy wizytą 1 a 2.
2. Późna poprawa, pomiędzy wizytą 1 a 3.
3. Stała poprawa, pomiędzy każdą wizytą.

6.1. Grupa parametrów tradycyjnie oceniających zaawansowanie niewydolności serca

W grupie późnej poprawy znalazły się następujące parametry:

1. Oceniana przez chorych, w skali punktowej, tolerancja wysiłkowa.
2. Klasy niewydolności serca, ocenianej przez badacza wg kryteriów NYHA .
3. W czasie badania zwracał uwagę trend poprawy w zakresie frakcji wyrzutowej ocenianej metodą Simpsona. Średnia wartość LVEF dla pierwszej wizyty wyniosła 37,41026%, dla drugiej 39,13158%, a dla trzeciej 39,57143%. Zaznaczyć jednak trzeba, że uzyskano jedynie graniczną znamienność statystyczną pomiędzy wizytą 1 a 3 ($p=0,05058$).

W grupie stałej poprawy znalazły się następujące parametry :

1. Wieloczynnikowa ocena parametrów testu wysiłkowego.
2. Wartości NT- pro BNP.

Nie zidentyfikowano poprawy parametrów na wczesnym etapie.

6.2. Parametry echokardiograficzne ocenione techniką STE

W grupie wczesnej poprawy znalazły się następujące parametry:

1. Średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory (PM-C).
2. Rotacja na poziomie koniuszka lewej komory (AP-RO).

W grupie stałej poprawy znalazły się następujące parametry :

1. Średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie zastawki mitralnej lewej komory (MV-C).
2. Średnie wartości odkształcenia radialnego na poziomie zastawki mitralnej (MV-RA) oraz mięśni brodawkowatych lewej komory (PM-RA).
3. Podłużne odkształcenie globalne (LGS).
4. Rotacja na poziomie zastawki mitralnej lewej komory (MV-RO).
5. Skręt.

W grupie późnej poprawy znalazły się następujące parametry:

1. Średnie wartości odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka lewej komory (AP- C).

6.3. Ocena korelacji

Analiza wpływu nosicielstwa T235T i jednocześnie podwyższonego, osoczonego stężenia aldosteronu (czynniki ryzyka) na badane parametry wykazała zależność jedynie z średnimi wartościami odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory (PM- RA). Obecność czynników ryzyka powoduje gorszą odpowiedź na terapię spironolaktonem w porównaniu do grupy nie obciążonej.

Nie wykazano żadnej istotnej statystycznie różnicy, w trakcie terapii spironolaktonem, pomiędzy grupą pacjentów z czynnikami ryzyka a pozostałymi chorymi, dla innych parametrów badanych.

7. DYSKUSJA

W ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się roli aldosteronu w patogenezie chorób sercowo-naczyniowych. Jego negatywny wpływ wynika nie tylko z niekorzystnego działania aldosteronu na gospodarkę wodno-elektrolitową, ale także z jego działań pozanerkowych na poziomie tkankowym. Nadmierna aktywacja układu RAA w odpowiedzi na uszkodzenie miokardium odgrywa istotną rolę w procesie remodelingu lewej komory. [7,12,16-20] Stężenie aldosteronu ulega zmniejszeniu pod wpływem leczenia ACEI. Jednak po kilkumiesięcznej terapii inhibitorami ACEI może dojść do ponownego wzrostu stężenia aldosteronu, co nazwano zjawiskiem ucieczki aldosteronu. [7,16] Rozmiar problemu wydaje się być znaczący, co pośrednio potwierdzają badania kliniczne RALES, EPHESUS i EMPHASIS-HF, w których wykazano istotne korzyści wynikające z uzupełnienia terapii niewydolności serca o inhibitory aldosteronu. Aktualnie europejskie, jak i amerykańskie towarzystwa kardiologiczne zalecają włączenie spironolaktonu, lub jego nowszych pochodnych (eplerenon) obok ACEI i β -blokerów do terapii przewlekłej niewydolności serca u pacjentów w klasie II-IV z LVEF $\leq 35\%$, lub LVEF $\leq 40\%$ u pacjentów którzy niedawno przebyli zawał serca i mają kliniczne objawy niewydolności serca lub cukrzycę. Terapia spironolaktonem ma ugruntowaną już pozycję w terapii przewlekłej niewydolności serca. [1,3,6]

Celem prezentowanej pracy badawczej, prowadzonej w latach 2012- 2014, była ocena poprawy anatomicznej i czynnościowej lewej komory w odpowiedzi na terapię spironolaktonem w grupie pacjentów ze skurczową niewydolnością serca.

Wybór pomiędzy spironolaktonem a bardziej selektywnym eplerenonem podyktowany był różnicami farmakologicznymi charakteryzującymi preparaty. Spironolakton, w przeciwieństwie do eplerenonu, ma ok. 10-20 krotnie większe powinowactwo do receptora mineralokortykoidowego, poza tym okres półtrwania jego aktywnych metabolitów jest zdecydowanie dłuższy od eplerenonu (16 godzin vs 4-6 godziny). [19] Wybór spironolaktonu do terapii pozwolił na zachowanie stałej, optymalnej dawki leku czasie trwania badania, co nie byłoby możliwe w przypadku eplerenonu, którego dawkowanie inicjujące terapię wynosi 25mg/dl i powinno być zwiększone do dawki 50 mg/dobę. Uniknięto w ten sposób potrzeby zwiększania dawki leku, w czasie trwania badania, co utrudniałoby analizę wyników. Wybór spironolaktonu dawał również większą gwarancję stałego stężenia metabolitów, co w

przypadku ominięcia dawki leku przez chorego skutkowałoby koniecznością wykluczenia chorego z badania. W celu zwiększenia bezpieczeństwa terapii spironolaktonem kontrolowano poziom potasu, kreatyniny w surowicy krwi, kontrolowano morfologię krwi obwodowej, prowadzono nadzór nad pacjentami pod względem objawów ginekomastii. W czasie trwania badania nie stwierdzono działań niepożądanych, które spowodowałyby konieczność odstawienia spironolaktonu, a tym samym wykluczenia chorego z badania.

Badanie ukierunkowane było na kilka aspektów. Jednym z nich była ocena efektu ucieczki aldosteronu w grupie pacjentów leczonych już ACEI, oraz analiza jaki wpływ ma terapia spironolaktonem na czynność skurczową lewej komory, a tym samym na kontrolę objawów niewydolności serca. Analizowano również czy nosicielstwo genotypu T235T i T174T poprzez zwiększenie produktów szlaku RAA, pomimo optymalnego już leczenia ACEI lub ARB, może istotnie wpływać na jakość odpowiedzi na leczenie spironolaktonem. Do odpowiedzi na ww. pytania wybrano kilka narzędzi badawczych. Analizowano zarówno subiektywnie odczuwaną przez chorych zdolność do wysiłku, ocenę kliniczną nasilenia objawów niewydolności serca wg skali NYHA, elementy badania przedmiotowego, wyniki analiz laboratoryjnych oraz badania echokardiograficznego z uwzględnieniem tradycyjnych parametrów oceny funkcji lewej komory jak i nowej techniki śledzenia markerów akustycznych. Wybór tak wielu parametrów podyktowany był chęcią wykazania konkurencyjności nowych metod oceny funkcji miokardium, w stosunku do metod tradycyjnych, co udowodniono w niniejszej pracy.

Badanie przeprowadzono w grupie 39 pacjentów, w tym 11 (28,2%) kobiet oraz 28 (71,8%) mężczyzn. Średnia wieku wyniosła 64,3 lat. Do badania zostali włączeni chorzy z objawami skurczowej niewydolności serca (HF-REF), ocenionej w skali NYHA II – 29 chorych (74,4%) oraz NYHA III – 10 chorych (25,6%).

Rekrutowani chorzy spełniali kryteria włączenia, w tym otrzymywali już optymalną farmakoterapię niewydolności serca ze szczególnym uwzględnieniem inhibitorów enzymu konwertującego. Badanie trwało 6 miesięcy, w czasie których odbyły się 3 wizyty, pierwsza inicjująca, z włączeniem spironolaktonu oraz kolejne 2 kontrolne, po miesiącu oraz po 6 miesiącach.

W chwili włączenia do badania stężenie aldosteronu w surowicy krwi powyżej wartości referencyjnych stwierdzono u 16 chorych, co stanowiło aż 41,0% przypadków. Wśród uczestników badania jedynie 9 pacjentów było nosicielami genotypu T235T

(23,0% przypadków). W grupie badanych nie stwierdzono nosicielstwa genotypu T174T. W podgrupie nosiciele genotypu T235T jedynie u 5 pacjentów stwierdzono obecność podwyższonych wartości aldosteronu w surowicy krwi. Analiza dotychczasowych publikacji na temat roli polimorfizmów M235T i T174M genu angiotensynogenu, dostarcza podobnych danych dotyczących częstości występowania analizowanych genotypów, odpowiednio dla T235T i T174T ok 24,0- 41,0% i 12,0% przypadków. [25,26,27] Mała liczebność grupy badanej i rzadkie występowanie allelu TT w pozycji 174 genu angiotensynogenu może tłumaczyć brak identyfikacji genotypu T174T w grupie badanych chorych.

Zwraca uwagę fakt, że jedynie 5 z 16 chorych z podwyższonym stężeniem osoczowego aldosteronu było nosicielem genotypu T235T. Analiza w/w danych pozwoliła wyciągnąć 2 wnioski. Z pewnością problem ucieczki aldosteronu, pomimo optymalnej terapii ACEI, jest zjawiskiem istotnym w trakcie terapii niewydolności serca. Zwiększona produkcja aldosteronu, jako końcowego produktu szlaku RAA, najprawdopodobniej musi mieć podłoże wieloczynnikowe, co nie wyklucza, oczywiście, negatywnego udziału genotypu T235T w jego produkcji. Znanych jest kilka mechanizmów, które mogą odpowiadać za ww. zjawisko, w tym: produkcja angiotensyny II szlakami niezależnymi od ACE, synteza aldosteronu szlakami niezależnymi od angiotensyny II. [7,16] W obrębie zainteresowania znajduje się również: polimorfizm genu ACE [21], polimorfizm genu kodującego receptor AT1 [22, 23], polimorfizm genu syntazy aldosteronu. [24] Analiza w/w czynników nie była jednak przedmiotem niniejszej pracy.

Analiza wpływu nosicielstwa T235T i jednocześnie podwyższonego, osoczowego stężenia aldosteronu (czynniki ryzyka) na badane parametry wykazała zależność jedynie z średnimi wartościami odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory (PM- RA). Obecność czynników ryzyka powoduje gorszą odpowiedź na terapię spironolaktonem w porównaniu do grupy nie obciążonej. Podobne wyniki uzyskał Caraciolo i wsp., którzy analizowali ww. zależności w grupie pacjentów po zawale serca, leczonych skuteczną angioplastyką. Dowiedli oni, że odkształcenie podłużne i okrężne lepiej koresponduje z poprawą funkcji serca niż odkształcenie radialne. Nie wykazano żadnej istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupą pacjentów z czynnikami ryzyka, a pozostałymi chorymi dla parametrów badania podmiotowego, przedmiotowego, badań laboratoryjnych oraz tradycyjnych parametrów badania echokardiograficznego. Biorąc pod uwagę zarówno częstość występowania

alleli TT w pozycji 235 i 174 genu angiotensynogenu oraz brak korelacji z większością analizowanych parametrów, wyciągnięto wnioski, że nie istnieje istotna zależność pomiędzy identyfikacją genotypów T235T oraz T174T a jakością odpowiedzi na terapię spironolaktonem.

W dalszej części badania analizowano jakość odpowiedzi parametrów klinicznych, laboratoryjnych oraz echokardiograficznych na terapię spironolaktonem. Włączenie spironolaktonu do leczenia spowodowało istotną poprawę pomiędzy wizytą 1 a 3 dla tolerancji wysiłkowej ocenionej przez pacjentów w subiektywnej skali punktowej ($p=0,00006$) oraz dla klinicznej oceny skali NYHA ($p=0,00059$). Pomędzy każdą wizytą uzyskano statystycznie znamienne spadki stężeń NT- pro BNP ($p=0,00293$) oraz wzrost wartości iloczynu wieloczynnikowej analizy parametrów testu wysiłkowego ($p=0,0000$). Prezentowana praca potwierdziła dużą wartość prognostyczną stężeń NT- pro BNP w terapii niewydolności serca. Podobnie jak w badaniach Dao i wsp. [34] oraz Troughton i wsp. [35] spadek NT- pro BNP koresponduje z odczuwaną przez chorych poprawą tolerancji wysiłkowej i zmniejszeniem klasy niewydolności serca.

Zwraca uwagę fakt niskiej czułości tradycyjnych parametrów echokardiograficznych w ocenie funkcji skurczowej lewej komory. Jediną poprawę, na granicy istotności statystycznej ($p=0,05058$), wykazano dla frakcji wyrzutowej. Średnia wartość LVEF dla pierwszej wizyty wyniosła 37,41026%, dla drugiej 39,13158%, a dla trzeciej 39,57143%. Możliwe jest, że graniczna poprawa EF wynika z małej liczebności grupy lub krótkiego czasu obserwacji chorych. Wskaźnik kurczliwości (WMSI) nie uległ istotnej poprawie ($p=0,59$) w czasie trwania badania. Średnie wartości WMSI wyniosły odpowiednio 1,56 dla pierwszej wizyty, 1,55 dla drugiej, dla trzeciej 1,57. W rekrutowanej grupie chorych, u prawie połowy badanych (48,60%), zobrażowano akinezę koniuszka lub segmentów koniuszkowych. Akinetyczne segmenty nie ulegały zmianie w czasie trwania badania, co zapewne przekłada się na wynik wskaźnika WMSI. Można więc pokusić się o stwierdzenie, że zgodnie z dotychczasowymi doniesieniami WMSI lepiej koresponduje z rozległością pozawałowych uszkodzeń [54, 79], ale nie oznacza to, że parametr ten musi dynamicznie reagować na poprawę globalnej funkcji skurczowej lewej komory.

Ocena funkcji skurczowej miokardium, wykonana za pomocą nowej techniki śledzenia markera akustycznego, dotyczyła zmian wartości odkształcenia regionalnego oraz globalnego lewej komory. Osobno, dla poziomu zastawki mitralnej, mięśni

brodawkowatych i koniuszka lewej komory, oceniano zmianę odkształcenia podłużnego, okrężnego, radialnego. Rotacja analizowana była dla poziomu zastawki mitralnej, oraz koniuszka lewej komory. Do globalnej analizy funkcji skurczowej lewej komory wykorzystano parametry globalnego odkształcenia podłużnego oraz skręt lewej komory.

Wartości odkształcenia okrężnego, będące wypadkową konkurencyjnego skracania warstwy podwierzdiowej i podnasierdziowej, przyjmowały największe wartości dla segmentów analizowanych na poziomie zastawki mitralnej. Średnie wartości odkształcenia okrężnego dla tego poziomu wyniosły odpowiednio, dla poszczególnych wizyt: -12,15%, -15,65%, -17,40%, ulegały poprawie pomiędzy każdą wizytą (1 vs 2 $p=0,0001$ oraz 2 vs 3 $p=0,0087$). Średnie wartości odkształcenia okrężnego dla segmentów na poziomie mięśni brodawkowatych wyniosły odpowiednio: -11,92%, -14,69%, -16,13%. Analiza statystyczna wykazała znamiennej poprawę między wizytą 1 a 2 (parametry wczesnej poprawy, $p=0,0003$). Dla koniuszka serca zmiany odkształcenia okrężnego wykazywały znacznie mniejsze wartości odpowiednio: -9,08%, -11,59%, -13,34%. Wartości te, podobnie jak w pracy Chan J. et al., zbliżone były do punktu odcięcia -13,6% odkształcenia okrężnego identyfikującego bliznę pozawałową. [68] Statystyczna analiza odkształcenia okrężnego na poziomie koniuszka wykazała znamiennej poprawę dopiero na etapie 3 wizyty (parametr późnej poprawy, $p=0,0004$).

Wartości odkształcenia radialnego, będące wypadkową skracania wszystkich włókien miokardium, podobnie jak wartości odkształcenia okrężnego, ulegały zdecydowanej poprawie na poziomie zastawki mitralnej i na poziomie mięśni brodawkowatych. Odpowiednio, wartości odkształceń radialnych na poziomie zastawki mitralnej, dla poszczególnych wizyt wyniosły: 15,50%, 19,58%, 23,45%, natomiast na poziomie mięśni brodawkowatych odpowiednio: 12,65%, 16,86%, 19,69%. Statystyczna analiza w/w wartości odkształcenia radialnego wykazała znamiennej poprawę pomiędzy każdą wizytą ($p=0,0000$). Odkształcenie radialne na poziomie koniuszka przyjmowało zdecydowanie mniejsze wartości, odpowiednio dla poszczególnych wizyt: 12,45%, 12,70%, 15,69%. Dla wartości tych nie wykazano żadnej statystycznej poprawy ($p=0,073$).

Deformacja skrętna odzwierciedla całościowo dynamikę ruchu lewej komory, jest konsekwencją jakości zmian odkształcenia w trzech kierunkach: podłużnym, radialnym i okrężnym. Stopniowej, stałej poprawie w trakcie badania uległa rotacja na

poziomie zastawki mitralnej lewej komory ($p=0,0005$). W grupie wczesnej poprawy tzn. między wizytą 1 a 2, znalazły się również wartości rotacji koniuszkowej ($p=0,02$). Nie wykazano jednak jej dalszej poprawy między wizytą 2 a 3. Rola rotacji na poziomie koniuszka jest aktualnie w kręgu żywego zainteresowania wielu badaczy. Nagel i wsp. [85] udowodnili, że zawał serca ściany przedniej zdecydowanie obniża wartość rotacji na poziomie koniuszka. Obserwacje te potwierdza również Takeuchi i wsp. [86] Dowiedli oni, że wartości rotacji koniuszka chorych po zawale serca ściany przedniej są zdecydowanie obniżone, i korelują z mniejszymi wartościami skrętu i dysfunkcją rozkurczową lewej komory. Wyniki tych prac mogą tłumaczyć rozbieżność pomiędzy wynikami rotacji na poziomie zastawki mitralnej, a koniuszkiem lewej komory, w prezentowanym badaniu. Analiza wywiadu chorobowego rekrutowanych pacjentów wykazała, że 16 (41,0%) chorych przebyło zawał serca STEMI ściany przedniej, natomiast u 25 chorych w zapisach EKG wykryto cechy martwicy ściany przedniej lub przednio-bocznej. W rekrutowanej grupie chorych, u prawie połowy badanych (48,6%), w rutynowym badaniu echokardiograficznym zobrazowano akinezę koniuszka lub segmentów przykoniuszkowych. Możliwe, że obserwowana poprawa funkcji nie objętych martwicą segmentów miokardium, mogła przyczynić się do poprawy wartości rotacji, a tym samym skrętu lewej komory.

Heterogenny charakter poprawy poszczególnych wartości regionalnych odkształceń, może świadczyć o tym, że udział w skurczu poszczególnych warstw nie jest jednakowy. W zdrowym sercu grubienie mięśnia sercowego, a więc jakość skurczu, zależy w 58% od warstwy endokardialnej, w 25% od warstwy środkowej oraz w ok. 17% od warstwy zewnętrznej. [82,83] Wartości odkształceń uzupełniają się wg zasady utrzymania stałej objętości, tzn. skracanie jednej z warstw wymusza rozciąganie w warstwie sąsiedniej. W przypadku uszkodzenia miokardium, kompensacyjna poprawa jednej z grupy mięśni może prowadzić do znaczącej poprawy funkcji skurczowej lewej komory. [83] Postrzeganie skurczu lewej komory w aspekcie helikalnej, warstwowej budowy, deprecjonuje tradycyjne metody echokardiograficzne tj. EF i WMSI, które nie odzwierciedlają funkcji włókien a jedynie funkcję jamy lewej komory

Wartości odkształceń oceniające globalną funkcję skurczową lewej komory tj. odkształcenie podłużne oraz skręt lewej komory ulegały stałej poprawie w czasie całego badania (LGS 1 vs 2 oraz 2 vs 3 $p=0,0001$, skręt 1 vs 2 $p=0,0001$ oraz 2 vs 3 $p=0,0002$).

Średnie wartości, maksymalnego skurczowego odkształcenia podłużnego dla poszczególnych wizyt wyniosły odpowiednio: -11,35%, -13,90%, -15,06%. Wyniki te dość dobrze korespondują z doniesieniami z innych publikacji, w których LGS AVG \geq -12,0% koreluje z EF \leq 35%. [67] Dla badanej grupy uśredniona wartość EF, w chwili włączenia do badania, wynosiła 37,41%. W kolejnych wizytach średnie wartości EF wynosiły 39,13% i 39,57%. Należy jednak pamiętać, że w niniejszej pracy dla frakcji wyrzutowej, w przeciwieństwie do wartości odkształcenia podłużnego, udowodniono jedynie graniczną statystycznie poprawę. Prezentowane wyniki LGS, podobnie jak wcześniejsze badania Antioni i wsp. [66] oraz Bjork i wsp. [80], udowadniają lepszą korelację globalnego odkształcenia podłużnego ze stanem klinicznym chorego.

Skręt jest parametrem, który globalnie określa funkcję skurczową lewej komory, gdyż zależy od synchronicznego odkształcenia wszystkich jej warstw mięśniowych prowadzącego do przeciwstawnej rotacji segmentów podstawnych i koniuszkowych, z równoczesnym skróceniem osi długiej lewej komory. Uśrednione wartości skrętu lewej komory, dla poszczególnych wizyt, wyniosły odpowiednio: 6,61°, 9,24°, 10,82°, zbliżyły się do wartości prawidłowych dla populacji osób zdrowych w wieku >60 rż, dla których wartość skrętu ocenia się na $10,8 \pm 4,8^\circ$. [53] Skręt lewej komory ulegał poprawie pomiędzy każdą wizytą ($p=0.0000$), można więc sądzić, że parametr ten najlepiej koresponduje ze zmianą stopnia niewydolności serca. Do podobnych wniosków doszli również Bansal i wsp. [75], Knudtson i wsp. [84]. Uważają oni, że pozawałowa dysfunkcja skurczowa miokardium nie zależy od regionu dotkniętego nekrozą, ale od rozległości blizny oraz „głębokości” warstw mięśnia lewej komory dotkniętych martwicą, która implikuje wartości rotacji i skrętu. W przypadku pełnościennego zawału, uszkodzeniu ulegają włókna zewnętrzne, które w głównej mierze odpowiadają za rotację, a tym samym skręt. W przypadku zawału podwosierdziowego, obniżeniu ulega głównie odkształcenie podłużne, stwierdza się natomiast kompensacyjnie większe wartości odkształcenia dla warstw podnasierdziowych, tym samym większa jest rotacja i skręt lewej komory. Biorąc pod uwagę ww. fakty, wydaje się bardzo prawdopodobne, że ocena skrętu w przyszłości zastąpi frakcję wyrzutową w ocenie globalnej, skurczowej funkcji lewej komory, ponieważ lepiej odzwierciedla mechanikę ruchu.

Podsumowując wyniki prezentowanej pracy, można stwierdzić, że włączenie spironolaktonu do leczenia niewydolności serca poprawia subiektywnie odczuwaną przez chorych zdolność do wysiłku, prowadzi do obiektywnej poprawy klasy

niewydolności serca, zmniejsza stężenie NT- pro BNP, markera laboratoryjnego o znaczeniu prognostycznym i rokowniczym. Idąca za poprawą kliniczną i laboratoryjną, poprawa funkcji skurczowej lewej komory, na wczesnym etapie terapii, możliwa jest tylko dzięki zastosowaniu parametrów odkształcenia miokardium. Stawia to technikę śledzenia markerów echokardiograficznych (STE) na zdecydowanie lepszej pozycji, w doborze metod do oceny dysfunkcji skurczowej lewej komory, niż dotychczasowe, tradycyjne techniki.

Wykazano, że globalna poprawa odkształcenia podłużnego, prezentującego głównie funkcję włókien wewnętrznych oraz skręt lewej komory, jako wypadkowa poszczególnych wartości odkształceń, są parametrami echokardiograficznymi, które lepiej niż frakcja wyrzutowa oraz wskaźnik kurczliwości regionalnej (WMSI), odzwierciedlają poprawę kliniczną i laboratoryjną chorych z umiarkowanymi objawami niewydolności serca. Praca udowodniła również dużą przydatność oceny regionalnej odkształcenia radialnego na poziomie zastawki mitralnej oraz mięśni brodawkowatych lewej komory.

Wyniki niniejszej pracy dobrze korespondują z dotychczasowymi opracowaniami naukowymi przyczyniając się do ugruntowania wartości diagnostycznej nowej metody śledzenia markerów akustycznych. Nowoczesne spojrzenie na funkcję lewej komory, oparte na teorii helikalnej budowy miokardium (spirali), powinno uwzględniać mechanikę całego mięśnia sercowego. [55,56] Naprzemiennosc skracania warstw miokardium powoduje, że skurcz lewej komory nie polega jedynie na zawężaniu jej światła, ale jest procesem przestrzennym i dynamicznym, na który składa się grubienie, skracanie i rotacja – skręt. Poprawa funkcji skurczowej lewej komory zależy od każdego aspektu ruchu warstw miokardium, a dokładna analiza każdego z elementów odkształcenia poprawia czułość i jakość tejże oceny.

8. WNIOSKI

1. Włączenie do terapii spironolaktonu, w grupie chorych z łagodnymi i umiarkowanymi objawami niewydolności serca, w trakcie obserwacji sześciomiesięcznej, zmniejsza nasilenie objawów niewydolności serca oraz prowadzi do poprawy funkcji skurczowej lewej komory ocenianej głównie techniką śledzenia markerów akustycznych.
2. Technika śledzenia markerów akustycznych w porównaniu do tradycyjnych parametrów echokardiograficznych, wykazuje zdecydowanie wcześniejszą poprawę funkcji skurczowej lewej komory. W okresie sześciomiesięcznej obserwacji największa poprawa, po podaniu spironolaktonu, występuje w zakresie skrętu, średnich wartości odkształcenia podłużnego oraz odkształcenia radialnego na poziomie zastawki mitralnej i mięśni brodawkowatych lewej komory.
3. Polimorfizm M235T oraz T174M genu angiotensynogenu nie wpływa w sposób istotny na jakość odpowiedzi na terapię spironolaktonem.
4. Terapia spironolaktonem pacjentów z niewydolnością serca, w okresie sześciomiesięcznej obserwacji, jest bezpieczna.

9. STRESZCZENIE

Celem pracy była ocena odpowiedzi na włączenie do leczenia antagonistów aldosteronu u chorych ze skurczową niewydolnością serca, ze szczególnym uwzględnieniem roli polimorfizmów genu angiotensynogenu M235T i T174M.

Do badania zostało włączonych 39 chorych (28 mężczyzn, 11 kobiet) w średnim wieku 64,3 lat, z objawami niewydolności serca, ocenionej w skali NYHA od II-III, z obniżoną LVEF $\leq 45\%$, leczonych optymalnie farmakologicznie, którzy wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu klinicznym oraz wykonanie badań genetycznych. Do badania nie włączono chorych w okresie dekompensacji przewlekłej niewydolności serca, z niewydolnością nerek i podwyższonym poziomem potasu $>5.5\text{mmol/l}$, leczonych antagonistami aldosteronu w okresie 8 tygodni poprzedzających włączenie do badania oraz po zabiegu angioplastyki wieńcowej w okresie krótszym niż 3 miesiące przed włączeniem do badania. W trakcie badania odbyły się trzy wizyty: pierwsza wizyta w chwili włączenia, druga wizyta po miesiącu, trzecia wizyta po sześciu miesiącach. Wszystkim chorym w czasie trzech wizyt wykonano: badanie podmiotowe, przedmiotowe, próbę wysiłkową na bieżni ruchomej, dwunastoodprowadzeniowy elektrokardiogram, badanie echokardiograficzne z zastosowaniem zaawansowanych technik oceny mechaniki lewej komory, badania laboratoryjne i badania genetyczne w celu identyfikacji genotypu T235T oraz T174T genu AGT.

W chwili włączenia do badania, stężenie aldosteronu w surowicy krwi powyżej wartości referencyjnych (n: 1,97- 26ng/dl), stwierdzono u 16 chorych, co stanowi 41,02% przypadków. Wśród uczestników badania jedynie 9 pacjentów było nosicielami allelu TT genu angiotensynogenu w pozycji 235. W grupie badanych nie stwierdzono nosicielstwa allelu TT genu angiotensynogenu w pozycji 174. W podgrupie nosieli allelu TT w pozycji 235 wykazano obecność podwyższonych wartości aldosteronu w surowicy krwi jedynie u 5 chorych. W grupie 36 pacjentów, którzy odbyli wszystkie zaplanowane wizyty, wykazano statystycznie różnice pomiędzy każdą wizytą w zakresie wydolności fizycznej ocenianej w skali punktowej, w analizie wieloczynnikowej parametrów testu wysiłkowego oraz pomiędzy wizytą 1 a 3 dla oceny w skali NYHA. Poziom NT- pro BNP obniżył się istotnie u wszystkich chorych w całym okresie obserwacji. W zakresie tradycyjnych parametrów echokardiograficznych, służących do oceny czynności skurczowej i rozkurczowej lewej komory, wykazano jedynie graniczną poprawę w zakresie frakcji wyrzutowej.

Natomiast zastosowana do oceny czynności skurczowej lewej komory technika śledzenia plamki akustycznej wykazała istotną poprawę wartości odkształcenia, rotacji, skrętu lewej komory w całym okresie obserwacji.

Analiza zależności pomiędzy obecnością i jakością poprawy ww. parametrów wykazała istotną zależność pomiędzy nosicielstwem T235T oraz podwyższonym, osoczym stężeniem aldosteronu jedynie dla wartości odkształcenia radialnego na poziomie mięśni brodawkowatych lewej komory. Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupą pacjentów z czynnikami ryzyka a pozostałymi chorymi dla parametrów badania podmiotowego, przedmiotowego, badań laboratoryjnych oraz tradycyjnych parametrów badania echokardiograficznego.

Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski:

1. Włączenie do terapii spironolaktonu, w grupie chorych z łagodnymi i umiarkowanymi objawami niewydolności serca, w trakcie obserwacji sześciomiesięcznej, zmniejsza nasilenie objawów niewydolności serca oraz prowadzi do poprawy funkcji skurczowej lewej komory ocenianej głównie techniką śledzenia markerów akustycznych.
2. Technika śledzenia markerów akustycznych w porównaniu do tradycyjnych parametrów echokardiograficznych, wykazuje zdecydowanie wcześniejszą poprawę funkcji skurczowej lewej komory. W okresie sześciomiesięcznej obserwacji największa poprawa, po podaniu spironolaktonu, występuje w zakresie skrętu, średnich wartości odkształcenia podłużnego oraz odkształcenia radialnego na poziomie zastawki mitralnej i mięśni brodawkowatych lewej komory.
3. Polimorfizm M235T oraz T174M genu angiotensynogenu nie wpływa w sposób istotny na jakość odpowiedzi na terapię spironolaktonem.
4. Terapia spironolaktonem pacjentów z niewydolnością serca, w okresie sześciomiesięcznej obserwacji, jest bezpieczna.

10. ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate a response to starting the aldosterone antagonists therapy in patients with systolic heart failure, with particular focus on polymorphism of the angiotensinogen gene M235T and T174M.

Thirty nine patients (28 men and 11 women) were enrolled into the study, of the mean age 64.3 years, with symptoms of heart failure, NYHA class II or III, with reduced LVEF $\leq 45\%$, receiving optimum pharmacological treatment, and who gave their written consent for participation in the clinical study and for genetic testing. Patients during decompensation of chronic heart failure, with renal failure, and with elevated potassium levels $>5.5\text{mmol/l}$, treated with aldosterone antagonists during 8 weeks preceding enrolment into the study, and post coronary angioplasty in less than 3 months before the study, were excluded. The study included three visits, the first one on enrolment, the second after one month, and the third one after six months. At all three visits, the following procedures were carried out for all patients: interview, physical examination, exercise stress test on a treadmill, 12-lead electrocardiogram, echocardiogram with advanced techniques for assessment of left ventricular mechanics, laboratory tests, and genetic tests for presence of M235T and T174M alleles of the AGT gene.

On enrolment in the study, the serum aldosterone level exceeding the reference values (n: 1.97- 26ng/dl) was found in 16 patients, representing 41.02% of all cases. Only 9 patients amongst the study participants were carriers of the T235T allele of the angiotensinogen gene. No carriers of the T174T allele of the angiotensinogen gene were found in the studied group. In the T235 carriers subgroup increased serum aldosterone levels were found only in 5 patients. In the group of 36 patients who attended all planned visits, a significant difference was observed for the physical capability score between successive visits, and for NYHA classification between the visit 1 and 3. The NT- pro BNP level was significantly reduced in all patients throughout the study period. For standard echocardiographic parameters evaluating systolic and diastolic functions of the left ventricle, only a limited improvement was observed for the ejection fraction. The speckle tracking electrocardiography used for evaluation of the left ventricular systolic function showed a significant improvement in strain, rotation, and twist of the left ventricular segments during the study.

An analysis of a correlation between presence and quality of the above parameters showed a significant relationship between the presence of T235T and increased aldosterone plasma levels only for the radial strain value in middle level of left ventricle. No significant differences were observed for parameters of the interview, the physical examination, laboratory tests, and for standard echocardiography parameters, between the group of patients with risk factors and other individuals.

The following conclusions were drawn on a basis of obtained results:

1. Starting of the spironolactone therapy in the patients group with mild or moderate symptoms of heart failure, in six month follow-up, reduces intensity of heart failure symptoms and improves left ventricular systolic function evaluated mainly with speckle tracking echocardiography.
2. Speckle tracking echocardiography, in opposite to standard echocardiography parameters, reveals earlier improvement of the left ventricular function. The greatest improvement, after starting the spironolactone therapy, is observed for the twist, averaged longitudinal strain and for radial strain measured at mitral valve and papillar muscle level of the left ventricle.
3. T235T and T174T polymorphism of the angiotensinogen gene is not responsible for the statistically significant difference in response to the spironolactone therapy.
4. The spironolactone therapy in patients with heart failure, in six month follow-up, is safe.

11. LITERATURA

1. Szczeklik A., Gajewski P.: *Interna Szczeklika. Podręcznik Chorób Wewnętrznych*; Kraków 2013, wyd. 5.
2. Dłużniewski M., Grzywanowska-Łaniewska I., i wsp.: *Kardiologia dla lekarzy praktyków i studentów medycyny*; Warszawa 2014, wyd. I.
3. Wytyczne ESC dotyczące rozpoznawania oraz leczenia ostrej i przewlekłej niewydolności serca na 2012 rok; Grupa robocza 2012 Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC) ds. rozpoznawania oraz leczenia ostrej i przewlekłej niewydolności serca działająca we współpracy z Asocjacją Niewydolności Serca ESC (HFA), *Kardiologia Polska* 2012; 70, supl. II:101-176.
4. Pruszczyk P., Hryniewiecki T., Drożdż J.: *Wielka Interna, Kardiologia cz I z elementami angiologii*; Medical Tribune 2010.
5. Baicu CF., Zile MR., Aurigemma GP., Gaasch WH.: *Left ventricular systolic performance, function, and contractility in patients with diastolic heart failure*; *Circulation*, 2005 111(18): 2306-12.
6. Mc Murray J., Cohen-Solal A., Dietz R. et al.: *Practical recommendations for the use of ACE inhibitors, beta blockers, aldosterone antagonists and angiotensin receptor blockers in heart failure: Putting guidelines into practice*. *The European Journalist of Heart failure* 7 (2005) 710-721.
7. Borysewicz A.: *Patofizjologia niewydolności serca*; CMKP Warszawa 2010, wyd. I.
8. Okubo S.N. et al.: *Angiotensin-independent mechanism for aldosterone synthesis during chronic extracellular fluid volume depletion*; *J Clin Invest* 99:885, 1997.
9. Edson F. Nogueira, Wendy B. Bollag, William E. Raine: *Angiotensin II regulation of adrenocortical gene transcription*; *Molecular and Cellular Endocrinology* Volume 302, Issue 2, 29 April 2009, Pages 230–236
10. Young MJ, Clyne CD, Cole TJ, et al. *Cardiac steroidogenesis in the normal and failing heart*. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5121-6
11. Mizuno Y, Yoshimura M, Yasue H, et al. *Aldosterone production is activated in failing ventricle in humans*. *Circulation* 2001; 103: 72-7.

12. Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, et al. *Spironolactone inhibits the transcardiac extraction of aldosterone in patients with congestive heart failure.* J Am Coll Cardiol 2000; 36: 838-44
13. Blasi E.R et al.: *Aldosterone/salt-induced myocardial injury; A vascular inflammatory disease.* Am J Hypertens 14:8 A, 2001.
14. Sun Y i wsp.: *Local angiotensin II and transforming growth factor-1 in renal fibrosis of rat.* Hypertension 35:1078, 2000.
15. Schlaich M.P. et al.: *Impact of aldosterone on left ventricular structure and function in young normotensive and mildly hypertensive subjects.* Am J Cardiol 85:1199, 2000.
16. Brunwald E. *Postępy w Kardiologii Harisona*; Lublin 2005, wyd. I.
17. Liu P.: *The path to cardiomyopathy: Cycles of injury, repair and maladaptation.* Curr Opin Cardiol 11:291, 1996.
18. Swedberg K. et al.: *Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe CHF and their relation to mortality.* Circulation 82: 1720, 1990.
19. Kapłon- Cieślicka A., Filipiak J.: *Eplerenon — co wiadomo o tym leku na początku 2009 roku?* Choroby Serca i Naczyń 2009, tom 6, nr 1, 26–36.
20. Yoshimura M., Nakamura S., Ito T. et al.: *Expression of aldosterone synthase gene in failing human heart: quantitative analysis using modified real-time polymerase chain reaction.* J. Clin. Endocrinol. Metab. 2002; 87: 3936–3940.32.
21. Orłowska-Baranowska E. *Praca pogładowa. Związek polimorfizmu genów układu renina-angiotensyna-aldosteron z chorobami układu sercowo-naczyniowego.* Polski Przegląd Kardiologiczny 2006,8, 1, 45-50.
22. Tiret L., Rigat B., Visvikis S et al.: *Evidence from combined segregation and linkage analysis that the variant of angiotensin I –converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels.* Am. J. Hum Genet .1992.51 197-205.
23. Stajszczyk M., Gmiński J.: *Rola polimorfizmu DNA układu renina-angiotensyna w patogenezie chorób układu krążenia.* Post. Hig.Med.Dośw., 1997.51,171-183.
24. Gruchała M., Ciećwierz D., Rynkiewicz A.: *Znaczenie polimorfizmu układu renina-angiotensyna w chorobach układu sercowo-naczyniowego.* [w:] Opolski G., Filipiak K. (red): *Leki hamujące układ renina-angiotensyna-aldosteron.* Urban & Partner, Wrocław 2000.

25. Kuntz R., Kreutz R., Beige J. et al.: *Association between the angiotensinogen 235T-variant and essential hypertension in whites. A systematic review and methodical appraisal.* Hypertension, 1997, 30, 1331-1337.
26. Sethi A.A., Nordestgaard B.G., Agerholm-Larsen B. et al.: *Angiotensinogen polymorphism and elevated blood pressure in the general population: Copenhagen City Heart Study.* Hypertension, 2001, 37, 875-881.
27. Rodriguez-Perez J.C, Rodriguez-Esparragon F., Hernandez-Pererao. et al.: *Association of angiotensinogen M235T and A(-6)G gene polymorphism with coronary heart disease with independence of essential hypertension: the PROCAGENE STUDY. Prospective Cardiac Gene.* J.Am.Coll.Cardiol., 2001, 37, 1536-1542.
28. Kauma H., Ikahelmo M., Savolainen M.: *Variants of rennin angiotensin system genes and echocardiographic left ventricular mass.* Eur. Heart J., 1998, 19, 1109-1117.
29. Millar C.A., Ye P., Gray G.A. et al.: *Aldosterone synthase (CYP11B2) and 11 β -hydroxylase (CYP11B1) gene expression in the normal and failing rat heart.* Endocr. Abstr. 2003; 5: 234.29. Takeda Y., Yoneda T., Demura M.
30. Drożdż J., Jakubowski P., i wsp.: *Terapia niewydolności serca.* Wyd. I. Termedia Wyd.Med. Poznań 2011.
31. Yandle T.G.: *Biochemistry of natriuretic peptides.* J Intern Med. 235:561, 1994
32. Maeda K. i wsp.: *Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker of high left ventricular end-diastole pressure in patients with symptomatic left ventricular dysfunction.* Am Heart J 135:825, 1998.
33. Bogdan M., Sielski S., Grześk G. i wsp.: *Mózgowy peptyd natriuretyczny w niewydolności serca* Forum Kardiologiczne 2004, 9,1, 1-7.
34. Dao Q., Krishnaswamy P., Kazanegra R., i wsp.: *Utility of B- type natriuretic peptide (BNP) in the diagnosis of CHF in an urgent care setting.* J Am.Coll. Cardiol. 2001, 37, 379-385.
35. Troughton R.W. et al.: *Treatment of heart failure guided by plasma amino terminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentration.* Lancet 355:1126, 2000.
36. Klimczak K., Szyszka A.: *Echokardiografia kliniczna.* Urban & Partner, Wrocław 2008.

37. Lang R.M, Brierig M., Devereux R.B. et al: *Recommendations for chamber quantification*, The European Society of Cardiology 2006.
38. Płońska-Gościniak E., Gackowski A., Gąsior Z. i wsp.: *Rekomendacje 2011 Sekcji Echokardiografii Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego dotyczące zastosowania echokardiografii obciążeniowej w praktyce klinicznej*. Kardiologia Polska 2011
39. Płońska-Gościniak E.: *Kompendium echo*. Medical Tribune Polska 2011.
40. Coghlan HC. Coghlan L.: *Cardiac architecture: Gothic versus Romanesque. A cardiologist`s view*. Semin Thorac Cardivasc Surg 2001; 13:417-30.
41. Senni M., Redfield M.M.: *Heart failure with preserved systolic function. A different natural history?* J. Am.Coll.Cardiol 2001; 38: 1277.
42. Vasani R.S, Levy D.: *Defining diastolic heart failure. A call for standardized diagnostic criteria*. Circulation 2000;101:2118.
43. Belenger N.G., Burgess M.I., Ray S.G. et al.: *Comparison of Left ventricular ejection fraction volumes in heart failure by echocardiography, radionuclide ventriculography and cardiovascular magnetic resonance*. Eur.Heart J. 2000; 21:1387.
44. Dickstein K., Cohen-Solal A., Filippatos G. et al: *ESC Guidelines for diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008*, Eur.Heart J. 2008; 29: 2388-2442.
45. Płońska- Gościniak E., Kasprzak J.D, Braksator W., Trojnarska O., Szyszka A. i wsp.: *Standardy kardiologiczne 2012 okiem echokardiografisty*. Medical Tribune Polska.
46. Muraru D., Badano L., Piccoli G.: *Validation of novel automated border-detection algorithm of rapid and accurate quantitation of left ventricular volumes based on three-dimensional echocardiography*. European Journal of Echocardiography 2010; 11: 359-368.
47. Hoffman P., Kasprzak J.D.: *Echokardiografia*; Via Medica , Gdańsk 2005
48. Cerqueira MD., Weissman NJ., Dilsizian V. et al: *Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart: a statement for healthcare professionals from Cardiac Imaging Committee of Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association*. Circulation 2002; 105:539-542.

49. Pierard L.A., Lancellotti P.: *Risk Stratification after myocardial infarction*. JACC Vol 56 No 22, 2010: 1823-5.
50. Heimadal A., Støylen A., Torp H., Skjærpe T.: *Real-time strain rate imaging of the left ventricle by ultrasound*. J.Am Soc Echocardiogr 1998; 11:1013-9.
51. Szymczyk E., Lipiec P., Michalski B., Kasprzak J.D.: *Technika śledzenia markerów akustycznych 2D i 3D: zastosowanie kliniczne*. Kardiologia Polska 2013; 71,1: 77-83.
52. Sutherland G.R, Steward M.J, Groundstroem W.E. et al.: *Color Doppler myocardial imaging: a new technique for the assessment of myocardial function*. J.Am. Soc Echocardiogr. 1994; 7:441.
53. Expert consensus statement: *Current and Evolving Echocardiographic Techniques for the Quantitative Evaluation of Cardiac Mechanics: ASE/EAE Consensus Statement of Methodology and Indications, Endorsed by the Japanese Society of Echocardiography*. J.Am Soc Echocardiograph 2011; 24: 277-313.
54. Korinek J., Sengupta PP., McMahon EM., et al.: *High spatial resolution speckle tracking improves accuracy of 2-dimensional strain measurements: an update on a new method in functional echocardiography*. J Am Soc Echocardiogr. 2007 Feb;20(2):165-70.
55. Torrent-Guasp F., Ballester M., Buckberg G. et al: *Spatial orientation of the ventricular muscle band: physiologic contribution and surgical implications*. J.Thorac Cardiovasc Surg 2001; 122: 389-92.
56. Torrent-Guasp F., Kocica M., Corno A.F. et al.: *Towards new understanding of heart structure and function*. Eur J. Cardiorac Surg 2005; 27 : 191-201.
57. Chrzanowski Ł, Lipiec P., Krzemińska-Pakuła M. i wsp.: *Echokardiograficzna ocena odkształcenia lewej komory przy zastosowaniu techniki doplera tkankowego oraz śledzenia markerów akustycznych (speckle tracking)* Polski Przegląd Kardiologiczny 2007;9:195-202.
58. Szymczyk E., Chrzanowski Ł., Krzemińska-Pakuła M., i wsp.: *Echokardiograficzna rotacja lewej komory przy zastosowaniu techniki śledzenia markerów akustycznych (speckle tracking)*; Polski Przegląd Kardiologiczny 2009;11:31-35.

59. Becker M., Bilke E., Köhl H. et al: *Analysis of myocardial deformation based on pixel tracking in 2D echocardiographic images allows quantitative assessment of regional left ventricular function.* Heart , 2006 ;92:1102-1108.
60. Ng AC., Sitges M., Pham PN. et al: *Incremental value of 2D speckle tracking strain imaging to wall motion analysis for detection of coronary artery disease in patient undergoing dobutamine stress echocardiography.* Am Heart J. 2009; 158: 836-844.
61. Cracciolo G., Eleid M.F., Abe H. et al: *Non-uniform recovery of left ventricular transmural mechanics in ST – segment elevation myocardial infarction.* Eur. J. Echocardiogr. 2011; 12: 483-489.
62. Kuznetsova T., Herbots L., Richard T., et al: *Left ventricular strain and strain rate in general population.* Eur. Heart J. 2008; 29:2014-23.
63. Dalen H., Thortensen A., Aase S.A., et al: *Segmental I global longitudinal strain and strain rate based on echocardiography of 1266 healthy individuals; the HUNT study in Norway.* Eur J. Echocardiography 2010; 11:176-83.
64. Huysman JAN., Vliegen H.W., Van der Laarse A., et al.: *Changes in nonmyocyte tissue composition associated with pressure overload of hypertrophic human hearts.* Pathol Res Pract 1989; 184:577-581.
65. Wong CY., O'Moore-Sullivan T., Leano R., et al.: *Alternation of left ventricular myocardial characteristics associated with obesity.* Circulation 2004;110: 3081-3087.
66. Antoni M.L., Mollema S., Delgado V. et al: *Prognostic importance of strain and strain rate after acute myocardial infarction.* Eur. Heart J. 2010 ,31, 1640-1647.
67. Stanton T., Leano R., Marwick TH.: *Prediction of all-cause mortality from global longitudinal speckle strain. Comparison with ejection fraction and wall motion scoring.* Circ. Cardiovasc. Imaging. 2009; 2: 356-364.
68. Chan J., Hanekom L., Wong Ch., Leano R. et al: *Differentiation of subendocardial and transmural infarction using two-dimensional strain rate imaging to assess short-axis and long axis myocardial function.* J. Am. Coll. Card 2006;48 2026-2033.
69. Hurlburt H.M., Aurigemma G.P., Hill J.C. et al: *Direct ultrasound measurement of longitudinal, circumferential, and radial strain using 2-dimensional strain imaging in normal adults.* Echocardiography, 2007; 24: 723-731.

70. Eek C., Grenne B., Brunvald H., Aakhus S., et al: *Strain echocardiography and wall motion score index predicts final infarct size in patients with non-ST-segment – elevation myocardial infarction*. *Circ Cardiovasc Imaging* 2010; 3:187-194.
71. Mayers Jh., Stirling M.C., Choy M., et al.: *Direct measurement of inner and outer wall thickening dynamics with epicardial echocardiography*. *Circulation* 1986; 74:164-72.
72. Sakiewicz W., Wojtowicz M., Narkiewicz K.: *Rola nowoczesnych technik echokardiograficznych w ocenie kinetyki mięśnia sercowego u pacjentów otyłych*. *Polski Przegląd Kardiologiczny* 2010, 12(1):57-61.
73. Rüssel I.K., Götte J.W., Bronzwaer J.G., Knaapen P., et al: *Left ventricular torsion. An expanding role in analysis of myocardial dysfunction*. *J. Am Coll Cardiol IMg* 2009;2: 648-55.
74. Maharaj N., Khandheria B., Peters F., Libhaber E., et al.: *Time to twist: marker of systolic dysfunction in Africans with hypertension*. *Eur Heart J. Cardivasc. Imaging* 2013; 14:358-65.
75. Bansal M., Leano R., Marwick T.: *Clinical assessment of left ventricular systolic torsion; Effects of myocardial infarction and ischemia*. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2008; vol 21 : 887-894.
76. Kroeker C.A., Tyberg J.V., Beyer R.: *Effects of ischemia on left ventricular apex rotation (An experimental study in anesthetized dogs)*. *Circulation*.1995;92:3539-3548.
77. Fuchs E., Muller M.F., Oswald H. et al: *Cardiac rotation and relaxation in patient with chronic heart failure*. *Eur. J. Heart Fail.* 2003;6:715-722.
78. Helle-Valle T., Crosby J., Edvardsen T. et al: *New noninvasive method for assessment of the left ventricular rotation: speckle tracking echocardiography*. *Circulation* 2005; 112: 3149-56.
79. Jacob E. Møller, Graham S. Hillis, Jae K. Oh et al: *Wall motion score index and ejection fraction for risk stratification after acute myocardial infarction*. *AHJ* 2006; vol 151: 419-425.
80. Caraciolo G, Eleid MF, Abe H et al: *Non-uniform recovery of left ventricular transmural mechanism in ST- segment elevation myocardial infarction*. *Cradiovasc Ultrasound* 2010; 8:31.

81. Bjork IC, Rozis E, Slordahl SA et al.: *Incremental value of strain rate imaging to wall motion analysis for prediction of outcome in patients undergoing dobutamine stress echocardiography*. Circulation 2002; 106:50-56.
82. Rademarkers FE, Rogers WJ, Guier WH et al.: *Relation of regional cross-fiber shortening to wall thickening in the intact heart. Three-dimensional strain analysis by NMR tagging*. Circulation 1994; 89:1174-82.
83. Myers JH., Stirling MC., Choy M, et al.: *Direct measurement of inner and outer wall thickening dynamics with epicardial echocardiography*. Circulation 1986;74:164-72.
84. Knudtson ML, Galbraith PD, Hildebrand KL, et.al.: *Dynamics of left ventricular apex rotation during angioplasty: a sensitive index of ischemic dysfunction*. Circulation. 1997; 96:801-808.
85. Nagel E., Stuber M., Lakatos M., et al.: *Cardiac rotation and relaxation after anterolateral myocardial infarction*. Coron. Rtery Dis.2000:11:261-7.
86. Takeuchi M., Nishikage T., Nakai H., et al.: *The assessment of left ventricular twist in anterior wall myocardial infarction using two-dimensional speckle tracking imaging*; J. Am. Soc Echocardiogr. 2007, 20:36-44.
87. GE Medical Systems, EchoPac MANUAL STATUS EY200474-05, version 113, revision 1.0