

Streszczenie pracy doktorskiej lek. Rafała Hładija

Promotor: prof. dr hab. Paweł Petkow-Dimitrow

Promotor pomocniczy: dr Renata Rajtar-Salwa

Temat pracy doktorskiej: „Troponin and its association with risk factors for sudden death in hypertrophic cardiomyopathy”

(„Troponina i jej powiązanie z czynnikami ryzyka nagłego zgonu w kardiomiopatii przerostowej”) – cykl publikacji

Publikacja nr 1

Badanie obejmowało 32 pacjentów z HCM (średni wiek 40 [SD 11 lat]; 20 mężczyzn i 12 kobiet). Zgodnie z protokołem badania w pierwszej kolejności wykonano echokardiografię. Bezpośrednio po echokardiografii rozpoczęto 24-godzinne badanie EKG, aby ocenić możliwe epizody tachykardii jako potencjalnej przyczyny wzrostu wysokoczułej Troponiny I (hs-TnI). Poszukiwano epizodów nieutrwalonego częstoskurczu komorowego (nsVT - czynnik ryzyka nagłej śmierci sercowej według wytycznych ESC i AHA / ACC) jako potencjalnej przyczyny dodatniego wyniku hs-TnI. Poziom hs-TnI oceniano natychmiast po wykonaniu testu Holtera. Pacjentów poproszono o zachowanie normalnej aktywności fizycznej podczas testu.

Zmienne ciągłe przedstawiono jako średnie (SD). Zmienne kategoryjne oceniono za pomocą testu dokładnego Fishera i wyrażono jako liczby (procenty). Korelacje między poziomami hs-TnI a parametrami EKG oceniano za pomocą współczynnika korelacji Pearsona. Za istotną uznano wartość P poniżej 0,05.

Wykazano hs-TnI u wszystkich chorych (zakres 1,5–38 571 ng/l). Podwyższone poziomy, powyżej górnej granicy normy stwierdzono u 16 pacjentów (grupa z dodatnim wynikiem oznaczenia troponiny), a poziom mieszczący się w granicach normy u 16 pacjentów (grupa z ujemnym wynikiem troponiny). Poziom hs-TnI był skorelowany z tętnem maksymalnym (silniejsza korelacja: $r = 0,69$, $p < 0,01$) i średnim tętnem (słabsza korelacja: $r = 0,41$, $p < 0,05$). Nie stwierdzono korelacji między poziomem hs-TnI, a minimalną częstością akcji serca ($r = 0,21$, $p = 0,39$). Średnie (SD) maksymalne tętno i średnie (SD) tętno były wyższe w grupie z dodatnim wynikiem oznaczenia troponiny niż w grupie z ujemnym wynikiem oznaczenia troponiny: 139 (9) bpm vs 125 (8) bpm i 79 (8) bpm vs 69 (7), odpowiednio ($P < 0,05$ dla obu porównań). Epizody nsVT były częstsze w grupie troponin-dodatniej w porównaniu do grupy troponin-ujemnej (75% vs 24%; $P < 0,03$).

Wykazano potencjalne ryzyko niedokrwienia mięśnia sercowego wywołanego wysiłkiem fizycznym lub spontaniczną tachykardią. Jeśli chodzi o związek przyczynowy, niedokrwienie mięśnia sercowego może być związane z nsVT u pacjentów z HCM.

Podsumowując, wykazano, że podwyższony poziom hs-TnI korelował ze zwiększonym tętnem w badaniu holterowskim, zwłaszcza z tętnem maksymalnym. B-blokery poprzez działanie B adrenergiczne redukują niedokrwienie mięśnia serca w HCM oraz mogą przyczyniać się

do zmniejszenia epizodów nsVT. W grupie pacjentów z dodatnią troponiną około 75% pacjentów wykazało tendencję do obecności nsVT w badaniu holterowskim, co może sugerować że niedokrwienie mięśnia serca stanowi substrat dla tachyarytmii, oraz obecność tachyarytmii może generować niedokrwienie mięśnia serca.

Publikacja nr 2

Badaniem objęto 51 pacjentów z HCM (średni wiek \pm SD 39 ± 8 lat; 30 mężczyzn i 21 kobiet). Koronarografię wykonano (ze wskazań) u 11 chorych (wynik prawidłowy lub nieznaczne zwężenie tętnicy wieńcowej $<50\%$). Pacjentów badano w następującym 24-godzinnym cyklu w następujący sposób: echokardiografia o godzinie 8 rano z prowokacją LVOTO bodźcami naturalnymi (test ortostatyczny i test Valsalvy), aktywność fizyczna w fazie dziennej z prawdopodobnie epizodami prowokowalnego LVOTO (niewymierne), okres fazy nocnej jako potencjalny czas wzrostu troponiny, której poziom mierzono po nocy o 8 rano. Spodziewano się, że poziom hs-TnI może być związany z dynamicznym i labilnym charakterem LVOTO ze zmiennymi pikami w ciągu dnia. Metodologia pomiaru parametrów echokardiograficznych została oparta na wytycznych ESC. Najważniejszym parametrem jest maksymalna grubość ściany lewej komory LV na dowolnym poziomie, najlepiej uchwytna w projekcji przymostkowej w osi krótkiej. Zgodnie z wytycznymi ESC i wcześniejszą włoską publikacją stosujemy średnicę przednio-tylną LA. Przebieg badania echokardiograficznego przedstawiał się następująco:

- 1) Standardowe badanie echokardiograficzne w stanie spoczynku w pozycji leżącej (ostatnim etapem badania był pomiar gradientu w LVOTO z zastosowaniem projekcji koniuszkowej 5 jamowej).
- 2) Wykonano manewr Valsalvy w pozycji leżącej z pomiarem gradientu w LVOTO
- 3) Gradient w LVOTO mierzono w projekcji koniuszkowej 5-jamowej, gdy pacjent znajdował się w pozycji stojącej.

Zmienne ciągłe o rozkładzie normalnym przedstawiono jako średnią \pm SD. Różnice między dwiema grupami oceniano za pomocą niezależnego testu t. Korelacje między poziomami hs-TnI a parametrami echokardiograficznymi oceniano za pomocą współczynnika korelacji Pearsona. Za istotną uznano wartość P poniżej 0,05. Hs-TnI wykryto u wszystkich pacjentów z HCM, a pacjentów z nieprawidłowym poziomem $> 19,5$ ng/l zdefiniowano jako dodatnią podgrupę troponiny. Porównując podgrupę z dodatnią hs-TnI oraz z ujemną, wartości wszystkich trzech parametrów były większe: średnica lewego przedsionka; maksymalna grubość LV, prowokowalny oraz spoczynkowy gradient w drodze odpływu LVOTO.

Porównanie podgrup hs-TnI ujemnych i dodatnich		
	Trop ujemna	Trop dodatnia

Parametry echokardiograficzne niewykorzystane jako czynniki ryzyka w kalkulatorze SCD			
Średnica końcoworozkurczowa LV (mm)	39.3 ± 6.6	42.1 ± 5.5	NS
Spoczynkowy EF (%)	60.1 ± 11.7	62.6 ± 10.5	NS
Spoczynkowy LVOTG (mmHg)	13.1 ± 12.7	33.9 ± 30	P = 0.021
Parametry z echokardiografii używane jako czynniki ryzyka SCD w kalkulatorze			
Prowokowalny LVOTG (mmHg)	25.5 ± 24.8	49.1 ± 45.9	P = 0.019
Średnica lewego przedsionka (mm)	43.9 ± 9.8	50.1 ± 9.6	P = 0.041
Maksymalna grubość LV (mm)	19.9 ± 3.4	22.1 ± 5.3	P = 0.029

Tabela 1 Porównanie parametrów echokardiograficznych kalkulatora SCD, pomiędzy podgrupami hs-TnI dodatnich i ujemnych (NS: nieistotne).

Korelacje Pearsona były istotne statystycznie między prowokowalnym gradientem w LVOTO i hs-TnI ($r = 0,39$, $p < 0,05$), a także między spoczynkowym gradientem w LVOTO i hs-TnI ($r = 0,37$, $p < 0,05$).

Brak jest jednoznacznych danych dotyczących mechanizmu hemodynamicznego niedokrwienia mięśnia sercowego u pacjentów, u których rozpoznano uwalnianie hs-TnI w HCM. Podejrzewamy, że podwyższone poziomy hs-TnI (związane z epizodami prowokowalnego LVOTO) są dość powszechne podczas codziennych czynności pacjentów z HCM (nawet podczas optymalnej farmakoterapii).

Publikacja nr 3

Badaniem objęto 46 pacjentów z HCM (średni wiek ± SD 39 ± 7 lat; 24 mężczyzn i 22 kobiety). Pacjentów poddawanych aktualnej farmakoterapii przebadano zgodnie z protokołem z poprzednich dwóch publikacji. Podzielono pacjentów na dwa modele obliczania ryzyka zgonu, pierwszy model obliczania ryzyka obejmował tylko aktualny holter EKG, drugi model obliczania ryzyka brał pod uwagę obecność groźnych arytmii komorowych w historycznych holterach. Zmienne ciągłe o rozkładzie normalnym przedstawiono jako średnią ± SD. Różnice między dwiema grupami oceniono za pomocą niezależnego testu t. Zmienne kategoryjne oceniono za pomocą testu dokładnego Fishera i wyrażono jako liczby (procenty). Za istotną uznano wartość P poniżej 0,05. Hs-TnI, którą wykryto u wszystkich pacjentów z HCM, a pacjentów z nieprawidłowym poziomem > 19,5 ng / l zdefiniowano jako dodatnią podgrupę troponiny; podgrupa z poziomem < 19,5 ng / l

zdefiniowano jako ujemną podgrupę troponiny. Po pomiarze NT-proBNP tylko 3 pacjentów ma normalne stężenie <125 pg / ml; w ten sposób podział na podgrupy został utworzony za pomocą mediany. Porównano obliczone 5-letnie procentowe ryzyko SCD w HCM między 19 pacjentami (hs-TnI dodatnimi), a 27 pacjentami (hs-TnI ujemnymi). Ryzyko to było istotnie większe, zarówno w pierwszym, jak i drugim modelu (Tabela 2). W drugim porównaniu pomiędzy podgrupami o wyższym NT-proBNP i niższych NT-proBNP ryzyko SCD nie było istotnie większe zarówno w pierwszym, jak i drugim modelu (tabela 2).

Pierwszy model - obecny Holter:			
5-letnie ryzyko SCD w HCM	Hs-TnI ujemny $n = 27$ $3.81 \pm 3.23\%$	Hs-TnI dodatni $n = 19$ $6.38 \pm 4.17\%$	$P < 0.05$
5-letnie ryzyko SCD w HCM	Niższy NT-proBNP $n = 23$ $4.14 \pm 4.18\%$	Wyższy NT-proBNP $n = 23$ $5.18 \pm 3.63\%$	NS
Drugi model – wszystkie Holtery z przeszłości:			
5-letnie ryzyko SCD w HCM	Hs-TnI ujemny $n = 27$ $4.25 \pm 4.20\%$	Hs-TnI dodatni $n = 19$ $6.90 \pm 3.99\%$	$P < 0.05$
5-letnie ryzyko SCD w HCM	Niższy NT-proBNP $n = 23$ $4.40 \pm 3.62\%$	Wyższy NT-proBNP $n = 23$ $6.29 \pm 4.18\%$	NS

Tabela 2: Porównanie między podgrupami hs-TnI dodatnich i ujemnych, a także między podgrupami o niższym i wyższym stężeniu NT-proBNT (NS: nieistotne).

W obecnym badaniu pacjenci z HCM i dodatnim wynikiem hs-TnI mają większe ryzyko SCD oszacowane zgodnie z kalkulatorem SCD zalecanym przez wytyczne ESC 2014 w porównaniu do pacjentów z ujemnym wynikiem testu hs-TnI. Poziom NT-proBNP nie jest powiązany z obliczonym 5-letnim ryzykiem SCD (stratyfikowanym za pomocą kalkulatora).

Streszczenie pracy doktorskiej w języku angielskim

Publication No. 1

In the study included 32 patients with HCM (mean [SD] age, 40 [11] years; 20 men and 12 women). According to the study protocol, echocardiography was performed first. Immediately after the echocardiography, a 24-hour ECG test was started to assess possible tachycardia episodes as a potential trigger of hs-TnI release. Moreover, we searched for possible episodes of nonsustained ventricular tachycardia (NSVT, a risk factor for sudden cardiac death according to the European Society of Cardiology and American Heart Association / American College of Cardiology guidelines) as a potential result of ischemia detected by hs-TnI release. The hs-TnI level was assessed immediately on completing the Holter test. Patients were asked to maintain normal physical activity during the test. The study protocol was approved by a local institutional review board.

Continuous variables were presented as mean (SD). Categorical variables were assessed using the Fisher exact test and expressed as numbers (percentages). Correlations between hs-TnI levels and ECG parameters were assessed using the Pearson correlation coefficient. A P value of less than 0.05 was considered significant.

Hs-TnI release was detected in all patients (range, 1.5–38 571 ng/l). Increased levels were revealed for 16 patients (troponin positive group), and “normal low” levels, in 16 patients (troponin negative group). The hs-TnI level was correlated with the maximum heart rate (stronger correlation: $r = 0.69$, $P < 0.01$) and the mean heart rate (weaker correlation: $r = 0.41$, $P < 0.05$). There was no correlation between the hs-TnI level and the minimum heart rate ($r = 0.21$, $P = 0.39$). The mean (SD) maximum heart rate and the mean (SD) heart rate were higher in the troponin positive group than in the troponin negative group: 139 (9) bpm vs 125 (8) bpm and 79 (8) bpm vs 69 (7), respectively ($P < 0.05$ for both comparisons). NSVT episodes were more common in the troponin positive group than in the troponin negative group (75% vs 24%; $P < 0.03$).

Our study suggests a potential risk of myocardial ischemia provoked by exercise-induced or spontaneous tachycardia. Regarding the causal relationship, myocardial ischemia may be associated with NSVT in patients with HCM.

In conclusion, our study showed that the elevated hs-TnI level correlated with an increased heart rate on Holter monitoring, especially with the maximum heart rate. Moreover, high hs-TnI levels were associated with the presence of NSVT.

Moreover, 75% of the patients with positive troponin were shown to have NSVT. Further research is needed to assess the protective role of β -blockers in tachycardia-related troponin release.

Publication No. 2

In our study included 51 patients with HCM (mean \pm SD age, 39 ± 8 years; 30 men and 21 women). Coronary angiography was performed (due to indications) in 11 patients (result was normal or insignificant coronary artery stenosis $<50\%$).

The patients on current pharmacotherapy were examined in the following 24-h cycle as follows: 8 a.m. echocardiography with LVOTG provocation by natural stimuli (orthostatic test and Valsalva test -provocable LVOTG is more preference than resting in SCD calculator) day phase physical activity with probably episodes of provocable LVOTG (unmeasurable), night phase period as a potential time for the rise of troponin, which level has been measured after night at 8 a.m. So far, no studies have used the following protocol. The patients has been asked to performed your common day physical activity and nocturnal resting. This protocol seems to be reasonable because hs-TnI levels may be related to the dynamic and labile nature of LVOTG with fluctuating peaks during the day time (provoked LVOTG as a potential cause for myocardial ischemia). During the first stage of our study we did not use upright exercise stress test to provoke LVOTG because previous study had reported exercise-related Tn release.

Methodology of measurement of echocardiographic parameters has been based on ESC Guidelines: The most relevant parameter is the maximum LV wall thickness at any level. Accordingly to ESC Guidelines we use anteroposterior LA diameter. The workflow of echocardiographic examination has been as follows:

- a) standard echo examination in resting condition in supine position (the last stage of examination was LVOTG measurement using 5-chamber apical window).
- b) immediately, Valsalva maneuver was perform in supine position with LVOTG measurement
- c) patients were asked to stand up with their left hand on their head
- d) LVOTG was measured in 5-chamber apical when patient was in standing position

Normally distributed continuous variables were presented as mean \pm SD. Differences between two groups were assessed using independent t test. Correlations between hs-TnI levels and echocardiographic parameters were assessed using the Pearson correlation coefficient.

A P value of less than 0.05 was considered significant.

Hs-TnI was detected in all HCM patients and patients with an abnormal level $> 19,5$ ng/l were defined as positive troponin subgroup.

By comparing the hs-TnI positive versus negative subgroups, the values of all three parameters were greater: left atrial diameter; maximal LV thickness, provocable LVOTG. Also, resting LVOTG was greater in hs-TnI positive subgroup.

Comparison between hs-TnI negative and positive subgroup

	Trop negative	Trop positive	
Parameters from echocardiography non-used as risk factors for SCD in calculator			
LV end diastolic diameter (mm)	39.3 ± 6.6	42.1 ± 5.5	NS
Resting EF (%)	60.1 ± 11.7	62.6 ± 10.5	NS
Resting LVOTG (mmHg)	13.1 ± 12.7	33.9 ± 30	P = 0.021
Parameters from echocardiography used as risk factors for SCD in calculator			
Provocable LVOTG (mmHg)	25.5 ± 24.8	49.1 ± 45.9	P = 0.019
Left atrial diameter (mm)	43.9 ± 9.8	50.1 ± 9.6	P = 0.041
Maximal LV thickness (mm)	19.9 ± 3.4	22.1 ± 5.3	P = 0.029

Table 1: Comparison between echocardiographic parameters of SCD calculator and subgroups of hs-TnI positive versus negative (NS: nonsignificant).

The Pearson correlations were statistically significant between provokable LVOTG and hs-TnI ($r = 0.39$, $p < 0.05$) as well as between resting LVOTG and hs-TnI ($r = 0.37$, $p < 0.05$).

There is no unequivocal data regarding the hemodynamic mechanism for myocardial ischemia diagnosed with hs-TnI release in HCM. We suspect that elevated hs-TnI levels (related to episodes of provokable LVOT) are quite common during the daily activities of patients with HCM (even in pharmacotherapy).

Publication No. 3

In our study included 46 patients with HCM (mean \pm SD age, 39 ± 7 years; 24 men and 22 women). Patients on current pharmacotherapy were studied according to the abovementioned protocol. Patients were divided into two models for calculating the risk of death, the first model of risk calculation included only the current ECG holter, the second model of risk calculation took into account the presence of dangerous ventricular arrhythmias in historical ECG holters.

Statistical Analysis. Normally distributed continuous variables were presented as mean \pm SD. Differences between two groups were assessed using independent t-test. Categorical variables were assessed using the Fisher exact test and expressed as numbers (percentages). A P value of less than 0.05 was considered significant.

Hs-TnI was detected in all HCM patients and patients with abnormal level > 19.5 ng/L were defined as positive troponin subgroup; nonelevated hs-TnI subgroup consisted of negative troponin subgroup.

After NT-proBNP measurement, only 3 patients have a normal concentration < 125 pg/mL; thus, subgroup division has been created by a median. In comparison between 19 patients (hs-TnI positive) versus 27 patients (hs-TnI negative), the calculated 5-year percentage risk of SCD in HCM was significantly greater, both in the first and in the second models (Table 2). In the second comparison between higher NT-proBNP versus lower NT-proBNP subgroups, the calculated 5-year percentage risk of SCD in HCM was not significantly greater in the first model as well as in the second model.

First model—current Holter:			
5-year SCD risk in HCM	Hs-TnI negative <i>n</i> = 27 3.81 ± 3.23%	Hs-TnI positive <i>n</i> = 19 6.38 ± 4.17%	<i>P</i> < 0.05
5-year SCD risk in HCM	Lower NT-proBNP <i>n</i> = 23 4.14 ± 4.18%	Higher NT-proBNP <i>n</i> = 23 5.18 ± 3.63%	NS
Second model—all Holter:			
5-year SCD risk in HCM	Hs-TnI negative <i>n</i> = 27 4.25 ± 4.20%	Hs-TnI positive <i>n</i> = 19 6.90 ± 3.99%	<i>P</i> < 0.05
5-year SCD risk in HCM	Lower NT-proBNP <i>n</i> = 23 4.40 ± 3.62%	Higher NT-proBNP <i>n</i> = 23 6.29 ± 4.18%	NS

Table 2: Comparison between subgroups of hs-TnI positive versus negative and also between subgroup of lower versus higher NT-proBNP concentration (NS: nonsignificant).

In the current study, patients with HCM and positive hs-TnI test have a higher risk of SCD estimated according to SCD calculator recommended by the ESC Guidelines 2014 than patients with negative hs-TnI test. Level of NT-proBNP is not associated with the calculated 5-year risk of SCD (stratified by calculator).