



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ  
КАТЕДРА ПО КЛИНИЧНА ЛАБОРАТОРИЯ  
И КЛИНИЧНА ИМУНОЛОГИЯ

---

Д-Р АДЕЛИНА ДИМИТРОВА ЦАКОВА

БИОМАРКЕРИ ЗА ДЕФИНИРАНЕ СТРАТИФИКАЦИЯ И  
ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА ПЕРИПРОЦЕДУРНА НЕКРОЗА СЛЕД  
ПЕРКУТАННА КОРОНАРНА ИНТЕРВЕНЦИЯ (РСІ)

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен  
"ДОКТОР"

Област на висше образование: Здравеопазване и спорт

Професионално направление: Медицина

Научна специалност: Клинична лаборатория

НАУЧНИ РЪКОВОДИТЕЛИ:

ПРОФ. Д-Р ДОБРИН СВИНАРОВ, ДМ

ДОЦ. Д-Р ДОБРИН ВАСИЛЕВ, ДМН

София / 2017 г.

Дисертационният труд е написан на 165 стандартни страници. От тях на 16 страници са представени използваните литературни източници.

Библиографската справка включва 231 автора – 8 на кирилица и 223 на латиница. Материалът е онагледен със 35 фигури, 3 диаграми и 38 таблици. Проучването е проведено в УМБАЛ “Александровска” ЕАД София.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита от Катедрен съвет на Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, Медицински университет - София на 22.11.2017.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 19.04.2018г. от 14 часа в аудиторията на УМБАЛ Св.Екатерина ЕАД съгласно чл. 76 и чл. 77 от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Медицински Университет – София на открито заседание на научно жури в състав:

Председател: Професор д-р Добрин Свинаров дмн

Членове:

1. Професор д-р Иванка Паскалева дмн
2. Професор д-р Маргаритка Бончева дм
3. Доцент д-р Добрин Василев дм
4. Доцент д-р Ваня Цонева дм

Резервни членове:

1. Доцент д-р Милена Велизарова дм
2. Доцент д-р Даниела Герова дм

Материалите по защитата се намират на разположение в научния отдел на МФ, МУ – София, ул. Здраве № 2

## **Списък на използваните съкращения :**

- ВЛКК** – Вътрелабораторен качествен контрол
- ВОК** – Външна оценка на качеството
- ГРГ** – Горна референтна граница
- МИ** - Миокарден инфаркт
- ОКС** – Остър Коронарен Синдром
- СК**– Креатинкиназа
- СК-МВ** – Креатинкиназа - МВ
- COV (cut-off value)** - дискриминантна стойност
- CRP**- С-реактивен протеин
- cTnI** - Сърдечен тропонин I
- cTnT** – Сърдечен тропонин T
- ECLIA** – Електрохемилюминисцентен имуен анализ
- FABP** - Белтък, свързващ мастни киселини
- hs** - високочувствителен (анализ)
- IGF** – Инсулиноподобен растежен фактор
- IL-6** - Интерлевкин 6
- LoB** - Граница на сляпата проба (бланк)
- LoD** - Граница на откриване
- LoQ** - Граница на количествено определяне
- MCP-1** -Моноцитен хемотаксисен протеин-1
- MMPs** - Матриксни металопроотеинази
- MPO** - Миелопероксидаза
- PAPP-A** - Асоцииран с бременността плазмен протеин А
- PIGF** - Плацентарен растежен фактор
- sCD40L** – разтворим CD40 лиганд
- TNF $\alpha$**  - Тумор-некротизиращ фактор алфа
- MACE** - Големи неблагоприятни сърдечни събития

## I. ВЪВЕДЕНИЕ

Сърдечните заболявания са най-честата причина за смърт в съвременните индустриално развити страни - над 17 милиона души годишно. Те са и основен фактор за инвалидизиране на населението и намаляване качеството на живот, което определя тяхната социална значимост.

България не прави изключение - между 60 и 70% от смъртността се дължи именно на сърдечно-съдовата патология като водещата роля принадлежи на коронарната болест на сърцето – заболяване със сложна патогенеза, хроничен ход и остро настъпващи усложнения.

Ролята на клиничната лаборатория е безспорна по отношение на коронарната патология във всички етапи – сърдечните маркери са в основата на диагностиката, терапията, рисковата стратификация и профилактиката при тези пациенти.

Според приетата дефиниция на диагнозата „миокарден инфаркт“ сърдечният тропонин се признава като “златен биохимичен стандарт”, чието увеличение в серума се използва за откриване, мониториране и стратификация на риска от миокардно увреждане.

Едновременно с това мащабни клинични проучвания удостоверяват възможностите на нови класове биомаркери, които характеризират ОКС в преднекротичния стадий и имат потенциал за стратификация на риска и клинична прогноза. Клиничното приложение на комбинациите от биомаркери с реално изтегляне на лабораторната диагноза на ОКС в преднекротичен стадий, е една все по-реално изглеждаща цел.

Необходими са и нови маркери и схеми за рискова стратификация, за да може да се диференцират групите с най-висок риск и болните, които биха имали полза от агресивна медикаментозна и интервенционална терапия.

Терапевтичното поведение при коронарна болест е сплав от 2 допълващи се подхода :

- Консервативен (медикаментозен)
- Инвазивен (интервенционален)

Инвазивният подход е представен от перкутанната коронарна интервенция (PCI) и байпас-хирургия (CABG).

Перкутанната коронарна интервенция (PCI) най-често е във вариант транслуменна (балонна) коронарна ангиопластика (PTCA) - инвазивен неоперативен метод, с който се възстановява проходимостта и кръвотока на засегнатия участък от коронарните артерии. Най-често дилатирането, което е в основата на метода, е съпроводено от поставянето на т.нар. **стент** от вътрешната стена на сърдечната артерия, където тя е стеснена или запушена.

Коронарният стент представлява съдова протеза, подобна на тънка пружинка, изградена от преплетени по специален начин тънки нишки от специални сплави или биополимери. Той се имплантира върху съдовата стена на мястото на стенозата, поддържайки отворена артерията.

Сравнена с байпас-хирургията, балонната ангиопластика с имплантирането на съдови стентове е по-малко инвазивна, с по-малък риск и икономически по-изгодна. След кратък период може да се възстанови нормалната физическа активност.

Какви са недостатъците?

Тъй като стентът е чуждо тяло в коронарния съд, неговото поставяне води до микротравма, нарушаване целостта на ендотела, разкъсване на подлежащата плака и експозиция на нейното ядро. Чрез включването на редица сложни механизми тези промени могат да предизвикат активация на тромбоцитите и повишена вероятност от образуване на тромб на това място, както и дистална микроемболизация от съдържимото на плаката - възможно е развитието на т.нар. **перипроцедурно увреждане** до степен на некроза и оформяне на **миокарден инфаркт тип 4a** според Третата дефиниция.

Проблем е и реакцията на организма към това чуждо тяло - имплантираният в съда стент предизвиква миграция на гладкомускулни клетки към интимата на съда, неоинтимална хиперплазия, пролиферация и рестеноза – усложнение, срещано при около 30 % от болните с имплантирани предимно BMS („bare metal stents”), което може да доведе отново до високостепенно стеснение или дори запушване на лекувания съд със исхемични прояви до оформяне на некроза.

Стремежът на специалистите - кардиолози, работещи активно в областта на инвазивната кардиология, е свеждането до минимум на тези нежелани реакции. В резултат бяха разработени второ поколение - т.нар. „освобождаващи медикамент стентове“, където процесът на рестенозите е силно намален – 6 - 10 %. Поради забавеното покриване на стента с ендотел и възможността по-дълго време съдържимото на плаката да е в контакт с кръвния ток (което е предпоставка за образуване на тромби), при медикамент-излъчващите стентове се наблюдава по-висока честота на тромбозиране...

Усилията в тази насока продължават - разработват се нови поколения стентове, които имат способността след известно време да се разтварят и абсорбират (т.нар. биополимерни скелета), като по този начин в кръвоносния съд да няма чуждо тяло, към което организмът да реагира или да доведе до образуване на тромб. До момента данните от проучванията са оптимистични...

Настоящият дисертационен труд е опит на автора да даде своя принос по отношение на този актуален в съвременната инвазивна кардиология проблем – предотвратяване, своевременно диагностициране и рисковата стратификация на възникнали усложнения след перкутанна коронарна интервенция със стентирание с оглед подобряване на резултатите от лечението на тези пациенти.

## II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

### ЦЕЛ:

Да се проучи честотата на перипроцедурната некроза след PCI и да се изясни значението на **сърдечните биомаркери като предиктори на перипроцедурни усложнения**. Въз основа на получените данни, да се изработи алгоритъм, позволяващ идентифицирането на високо-рискови пациенти.

За постигането на тази цел е необходимо изпълнението на следните

### ЗАДАЧИ:

1. Верифициране на основните аналитични характеристики на високо-чувствителния имунохимичен метод (ECLIA) за определяне на cTnT като „златен стандарт“ за миокардна некроза и на нововъведените имунохимични методи за определяне на PAPP-A и NT-pro BNP.
2. Да се извърши **сравнително проспективно проучване на плазмените нива на сърдечните маркери cTnT, CKMB, CK, NTproBNP, PAPP-A и CRP при пациенти с перипроцедурно повишение на маркерите за миокардна некроза, за период от 1 година.**
3. Да се проучи **корелационната зависимост между исхемичните промени в интракоронарната ЕКГ и нивата на сърдечните маркери** при тези пациенти.
4. Да се определи **честота на перипроцедурната мионекроза**, оценена чрез нивото на следпроцедурен тропонин, с изолиране на предиктори.
5. Да се оцени комбинираната **честота на смърт и големи неблагоприятни сърдечни събития (MACE)** с извеждане на предиктори за смъртност.
6. Получените резултати да се използват за създаване на **алгоритъм за определяне на високо-рисковите пациенти** за възникване на перипроцедурни усложнения.

### III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ:

#### КЛИНИЧЕН МАТЕРИАЛ:

Пациентската група е представена от 103 пациенти с комплексни (82%) и некомплексни коронарни лезии. Комплексни лезии са тези с дължина > 20mm, калцифицирани (тип В/С лезия ) или бифуркационни.

Интракоронарна ЕКГ (icECG) е записвано от главния съд, а в случаите на бифуркационни лезии – от страната на засегнатия участък.

Пробите за изследване на биохимични маркери (сTnT, СКМВ, СК, NTproBNP, PAPP-A, CRP) са взети преди процедурата и на 12-24 час след провеждането ѝ.

#### Изисквания към пробата за изследване, подготовка и съхраняване:

Като биологичен материал се използва серум, получен при спазване на правилата за преданалитичен етап. Серумите са изследвани при получаването им или съхранявани във фризер на – 20<sup>0</sup>С. Размразявани са еднократно.

Проведени са **5-кратни проследявания за наблюдавания период от 18 месеца (на 1-ия, 6-ия, 9-ия, 12-ия и 18 месец)** като е отбелязвана преживяемостта и честотата на големите неблагоприятни сърдечни събития – повторна хоспитализация поради сърдечна недостатъчност, остър коронарен синдром, необходимост от повторна интервенция или смърт. Проследяванията са извършени с периодични прегледи, включващи клинични, лабораторни и ЕКГ изследвания и хоспитализации при необходимост, както и чрез контакти с пациентите и близките им и от тяхна медицинска документация - епикризи, смъртни актове и други.

#### Използвани аналитични методи, реактиви и анализатори:

Показатели	Методи	Анализатори
hs cTnT	ECLIA	ELECSYS 2010
NTproBNP	ECLIA	ELECSYS 2010
PAPP-A	ECLIA	ELECSYS 2010
hs CRP	Имунотурбидиметричен, усилен с частици	Cobas Integra 400 +
СК-МВ	Имуноинхибиционен	Cobas Integra 400 +
СК	IFCC 37 C	Cobas Integra 400 +

## Статистически методи:

Получените данни са обработени със статистически със пакет **SPSS19**.

1. Изследваните параметри са представени като средна стойност, плюс-минус едно стандартно отклонение; ако разпределението на параметъра не е нормално, е дадена медиана с интерквартилен обхват.
2. Всички данни са тествани за нормално разпределение с тестовете на Колмогоров – Смирнов и Шапиро – Уилк.
3. Студент t-тестът, е използван в зависимост от проследявания (съответно сравняван) параметър при Гаусово разпределение на данните, Ман – Уитни или Уилкоксон знаковият тест е използван тогава, когато данните не са били с правилно разпределение.
4. Интервалните и номиналните данни са представени като проценти или отношения.
5. Тестът хи-квадрат е използван за сравнение на честоти и проценти, като при очакван бой единици в клетка под 5, е използван тест на Фишер.
6. При наличие на повече от две групи в даден параметър, е направен дисперсионен анализ - едностранен ANOVA тест.
7. Осъществи се корелационен анализ за извеждане на предикторите на смъртност, общо количество сърдечни неблагоприятни събития, както и честота на перипроцедурна мионекроза (съгласно Третата дефиниция на миокардния инфаркт).
8. За определяне на клиничните предиктори на изброените крайни показатели е направен множествен регресионен анализ с последователна елиминация назад, с критерий за влизане в модела  $p < 0.1$ , оставане в модела при  $p < 0.05$  – логистичен или Кокс регресионен анализ при наличие на регистрирано време за даден показател.
9. Receiver-operator-curve (ROC) анализ е направен за идентифициране на критичните стойности за предиктори, както и за определяне на чувствителността и специфичността на дадена стойност.
10. За оценка влиянието на даден параметър върху преживяемостта се построиха Каплан – Майер криви на преживяемостта с лог – ранг тест за оценка на статистическата разлика.
11. За ниво на сигнификантност е прието  $p < 0.05$ .

### **Статистически план:**

Работната хипотеза на изследването е, че **новите предложени маркери (NT proBNP, PAPPА, hsCRP)** както и традиционно използваните маркери за миокардна некроза (**cTnT, СК, СКМВ**) могат да се използват за **предсказване на исхемия** (установена на базата на интракоронарна ECG), **следпроцедурна мионекроза** (на основа на следпроцедурно повишаване на cTnT над 5 пъти над горната референтна граница), **краткосрочната и дългосрочната смъртност** - всички те като **последица от коронарна болест.**

#### IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

За изпълнение на поставените от нас задачи беше извършено следното:

##### A. Верифициране на основните аналитични характеристики на използваните методи за определяне на cTnT, NTproBNP и PAPP

Според CLSI (Институтът за клинични и лабораторни стандарти на САЩ) и програмата EP15 A2 (2005) верификацията включва определянето на основни аналитични характеристики :

- аналитичен обхват (линейност)
- невъзпроизводимост
- недостоверност
- верифициране на референтни интервали

При започване на процедурата за верификация се извършва проверка на линейността на калибрационната крива. Тя е специфична за всеки лот №, изготвена от производител чрез използване на вътрешен стандарт.



В лабораторията се извършва верификация със два калибратора с обявени стойности. Прицелните им стойности са определени чрез използване на условен стандарт на производителя, който е или не е проследим до стандарт от по-висок метрологичен клас.

##### Калибрационни набори – обявени стойности, произход и проследимост

МЕТОД	КАЛИБРАТОР1	КАЛИБРАТОР2	ПРОИЗХОД	ПРОСЛЕДИМОСТ
hs cTnT	20 ng/L	5200 ng/L	рекомбинантен човешки TnT в човешки серумен матрикс	Няма проследимост до първичния стандарт SRM 2921/Hy Tech Ltd
NTproBNP	16 pmol/L	340 pmol/L	синтетичен NTproBNP в лиофилизиран конски серумен матрикс	Няма първичен стандарт

PAPP-A	75 mIU/L	2500 mIU/L	PAPP-A от човешка плацента в лиофилизиран човешки серум	Проследим до първичен референтен материал <b>IRP 78/610</b>
--------	----------	------------	---	--

### Невъзпроизводимост в серия и във време:

За оценката на невъзпроизводимост бяха използванг **контролни серуми** от човешки произход в 2 или 3 концентрационни нива с **обявени прицелна стойност и доверителен интервал**, като в продължение на **5 дни** са изследвани **двойни проби** за всеки материал. Средните аритметични стойности на използваните контролни серуми, получени в лабораторията, попадат в доверителните интервали на производителя и се отклоняват в допустими граници – CV са ниски.

### Невъзпроизводимост в серия:

МЕТОД	КОНТРОЛЕН СЕРУМ	ПРИЦЕЛНА СТОЙНОСТ	СРЕДНА СТОЙНОСТ	SD	CV%
hs cTnT	PC TNT1 №172968	0,025 µg/L 0.018–0.031	0,027 µg/L	0,000894	0,36 %
	PC TNT2 №172968	2,08 µg/L 1.77 – 2.39	1,98 µg/L	0,0085	0,43%
NTproBNP	PC Cardiac II №172342	16.7 13.7 – 19.7	16,18	0.0921	0.56%
	PC Cardiac II №172342	547 449 - 645	549,42	4.84	0.88%
PAPP-A	PC Maternal Care 1 lot № 173842	4740 3745-5735	4678 mIU/L	55,63	1,19%
	PC Maternal Care 1 lot № 173842	2520 1991-3049	2455 mIU/L	65.29	2.60 %
	PC Maternal Care 1 lot № 173842	250 198-303	246 mIU/L	3.014	1.20 %

**Невъзпроизводимост във време** – използван е същият подход като контролните серуми са определяне за период от 20 дни.

МЕТОД	КОНТРОЛЕН СЕРУМ	ПРИЦЕЛНА СТОЙНОСТ	СРЕДНА СТОЙНОСТ	БРОЙ	CV%
hs cTnT	PC TNT1 №172968	0,025 µg/L 0.018–0.031	0,026 µg/L	20	<b>5,2%</b>
	PC TNT2 №172968	2,08 µg/L 1.77 – 2.39	2,02 µg/L	20	<b>2,7%</b>
NTproBNP	PC Cardiac II №172342	16.7 13.7 – 19.7	16.184	20	<b>4,9%</b>
	PC Cardiac II №172342	547 449 - 645	549.42	20	<b>5,3%</b>
PAPP-A	PC Maternal Care 1 lot № 173842	4740 3745-5735	4743.35	20	<b>6.7 %</b>
	PC Maternal Care 1 lot № 173842	2520 1991-3049	2500.1	20	<b>5.2 %</b>
	PC Maternal Care 1 lot № 173842	250 198-303	245.57	20	<b>4.5 %</b>

### **Недостоверност**

Оценката на недостоверност бе направена с контролни материали с обявена прицелна стойност и допустими интервали в поне две нива - всеки контролен материал се изследва в двойни проби в продължение на 5 дни - определя се отклонението на средната аритметична стойност, получена в лабораторията, от обявената стойност на производителя - d%(bias) като мярка за недостоверност. Получените отклонения са в рамките на допустимите.

МЕТОД	КОНТРОЛЕН СЕРУМ	ПРИЦЕЛНА СТОЙНОСТ	СРЕДНА СТОЙНОСТ	BIAS	BIAS d %
hs cTnT	PC TNT1 №172968	0,025 µg/L 0.018–0.031	0,027 µg/L	0,002	<b>8,0%</b>
	PC TNT2 №172968	2,08 µg/L 1.77 – 2.39	1,98 µg/L	-0,1	<b>-4,8%</b>
NTproBNP	PC Cardiac II №172342	16.7 13.7 – 19.7	16.184	-0.51	<b>-3.10%</b>
	PC Cardiac II №172342	547 449 - 645	549.42	2.42	<b>0.44%</b>
PAPP-A	PC Maternal Care 1 lot № 173842	4740 3745-5735	4677	-59.00	<b>-1.24%</b>
	PC Maternal Care 1 lot № 173842	2520 1991-3049	2455.3	-64.60	<b>-2.56%</b>
	PC Maternal Care 1 lot № 173842	250 198-303	246.3	-3.68	<b>-1.47%</b>

Съгласно препоръките на CLSI **референтните интервали на производителите бяха подложени на верификация** – чрез изследване на контролна група от здрави 20 мъже и 20 жени на възраст от 20 до 56 години. Получените от нас резултати потвърждават референтните граници на производителите.

Метод	Референтен интервал	Брой лица	Получени данни
hs cTnT	< 0.014 ng/ml	40	<b>&lt; 0.003 – 0.014 ng/ml</b>
NTproBNP	< 17.5 pmol/L	40	<b>1.1 – 10.39 pmol/L</b>
PAPP-A	< 7,15 mIU/L	40	<b>4,0 – 7,06 mIU/L</b>

## Анализ на резултати:

При статистическият анализ на биохимичните маркери преди и след PCI в групата като цяло, се наблюдава **очаквано значима промяна в стойностите на Тропонин Т като основен маркер за некроза и PAPPА като маркер за дестабилизация на плаките.**

При сравнение на **комплексните** с некомплексни пациенти се установява, че промяната в основният маркер за некроза -  $\Delta$ TnT% - е **значимо по-висока в първата група**, което означава повече исхемия по време на процедурата и вероятно – повече финална миокардна некроза. Налице е и значително покачване на NTproBNP и CRP в цифрово изражение, въпреки, че не достигат статистическа значимост - най-вероятно заради малкия обем на извадката.

Променлива	Комплексни	Некомплексни	P
$CK_1$	121±81	164±154	0.066
$CK_2$	134±102	160±145	n.s.
$CKMB_1$	19±21	20±15	n.s.
$CKMB_2$	18±8	20±13	n.s.
$Tn T_1$	.022±.064	.040±.118	n.s.
$Tn T_2$	.063±.079	.069±.181	n.s.
$NTproBNP_1$	76±128	73±111	n.s.
$NTproBNP_2$	87±147	74±116	n.s.
$PAPPA_1$	5.63±2.63	7.40±6.57	n.s.
$PAPPA_2$	6.59±3.67	7.49±6.57	n.s.
$hsCRP_1$	6.24±16.60	4.70±5.66	n.s.
$hsCRP_2$	7.49±14.54	5.59±4.43	n.s.
$\Delta CK$	13±95	03±64	0.088
$\Delta CK\%$	31±114	4±31	0.065
$\Delta CKMB$	1±22	1±5	n.s.
$\Delta CKMB\%$	12±52	10±31	n.s.
$\Delta Tn$	.046±.085	.029±.127	n.s.
$\Delta Tn\%$	792±180	219±298	<b>0.012</b>
$\Delta NTproBNP$	11±50	1±25	n.s.
$\Delta NTproBNP\%$	47±112	23±53	n.s.
$\Delta PAPPA$	.96±2.48	.09±2.24	0.086
$\Delta PAPPA\%$	18±36	8±22	n.s.
$\Delta hsCRP$	1.26±7.22	.89±4.12	n.s.
$\Delta hsCRP\%$	92±246	51±124	n.s.

Корелационният анализ на базовите и постпроцедурните нива на биохимичните маркери показва значителна до много висока положителна корелация на базисни и следпроцедурни нива на биохимичните маркери с изключение на СК-МВ – по-високите базисни нива на всички маркери са свързани и с по-високи нива след процедурата и повишените предпроцедурни нива подпомагат идентифицирането на рисковите пациенти.

	Двойки маркери	N	Коефициент на корелация
1	cTnT <sub>1</sub> /cTnT <sub>2</sub>	101	<b>0.616</b>
2	CPK <sub>1</sub> /CPK <sub>2</sub>	101	<b>0.709</b>
3	СКМВ <sub>1</sub> /СКМВ <sub>2</sub>	99	<b>0.357</b>
4	NTproBNP <sub>1</sub> /NTproBNP <sub>2</sub>	103	<b>0.950</b>
5	PAPP-A <sub>1</sub> /PAPP-A <sub>2</sub>	103	<b>0.880</b>
6	CRP <sub>1</sub> /CRP <sub>2</sub>	103	<b>0.892</b>

#### **В. Извеждане на предиктори на исхемия и изясняване на връзката между промените в биохимичните маркери и промените в icEKG.**

От изследваните 103 пациенти 70% са имали поне 1 исхемична промяна (елевация на ST сегмента над 1мм):

- 31 (30%) не са имали промени - група 0;
- 6 (6 %) - промени в региона на страничен клон - група 1
- 30 (29%) промени в областта на главния съдов регион - група 2
- 36 (35%) - промени в области на главни и странични клонове - група 3



От анализа на ангиографските и процедурни характеристики е направен следният извод : **повишената сложност** на лезията, изразена като **по-високи рискови индекси SYNTAX, BARI и APPROACH**, както и **наличието на многоклоново засягане**, води до **по-честа и по-широко разпространена** остатъчна исхемия в края на PCI - **всички рискови резултати са по-високи в група 3**

От анализа на биохимичните маркери при четирите групи правят впечатление два факта :

- 1) пациентите с исхемични промени в края (**групи 1,2 и 3**) имат **по-високи нива на СКМВ и NTproBNP преди процедурата** – т.е комбинацията от повишени предпроцедурни нива на тези 2 маркера служи като клиничен **предупредителен знак** за процедурни и постпроцедурни проблеми.
- 2) маркерите за некроза **hsTnT и СКМВ** са **по-високи** в групите **1 и 3** – с включване на **страничен клон** – този факт потвърждава извода, че включването на страничните клонове е показател за по-висок от обичайния риск за постпроцедурни усложнения.

Променлива	0	1	2	3	P
СКМВ <sub>1</sub>	16±5	44±70	18±12	18±11	0.012
NTproBNP <sub>1</sub>	46±68	75±79	123±192	59±76	0.047
ΔTnT	0.020±0.063	0.068±0.104	0.011±0.049	0.079±0.139	0.019
ΔСКМВ	1±5	30±78	2±6	1±8	0.002
ΔСКМВ%	8±28	12±123	15±34	10±52	0.002

От множествения регресиония анализ, включващ ангиографски, процедурни и биохимични маркери, са изведени 4 независими предиктори за исхемия:

- I. **NTproBNP<sub>2</sub>** – OR=1.007, CI 1.000-1.013, p=0.039
- II. **Прием на калциеви антагонисти** – OR=5.978, CI 1.967-18.178, p=0.002
- III. **MV initial %DS** – OR=.971, CI .946-.997, p=0.031  
(диаметър на стенозата в главен съд в началото)
- IV. **MV QRS final** – OR=.294, CI .098-.884, p=0.029  
(ширина на QRS комплекс от регион на главен съд)

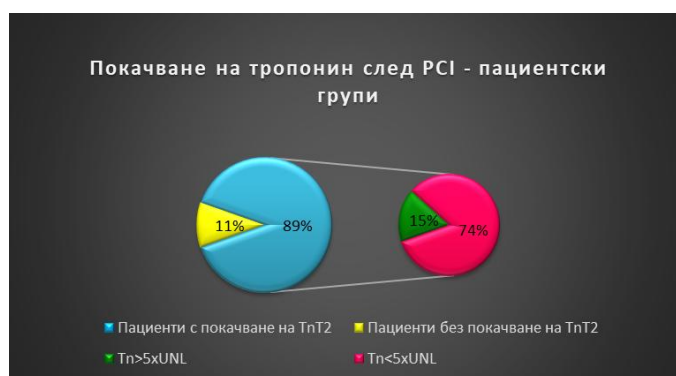
Интересен феномен с чисто практическо приложение е фактът, че пациентите с **прием на калциев антагонист преди процедурата по-рядко са имали ST елевация** - 54% срещу 83%, p = 0.002. Тази важна отрицателна корелация би следвало да се има предвид от лекуващите лекари при подготовката на пациентите за PCI с оглед намаляване риска от исхемия и следпроцедурни усложнения.

### С. Извеждане на маркери, предсказващи следпроцедурна мионекроза.

Приемаме за критерий за значима мионекроза (според 3-та дефиниция на инфаркт на миокарда тип 4а) нарастване на тропонина **повече от 5 пъти** над горна референтна граница при изходни нива в референтния обхват или повишаване с над 20% при повишени, но стабилизирани или падащи изходни нива.

От изследваните 103 души :

- 91 (89%) са имали покачване на тропониновото ниво след процедурата.
- 17 пациенти (**15%**) са имали тропониново покачване над 5 пъти над ГРГ



Пациентите бяха разделени на две групи – с клинично значимо покачване до степен на **некроза** (над 5 пъти над ГРГ) и такива с повишение по-малко от 5 пъти над горна референтна граница, при които се приема наличие на **перипроцедурна увреда**.

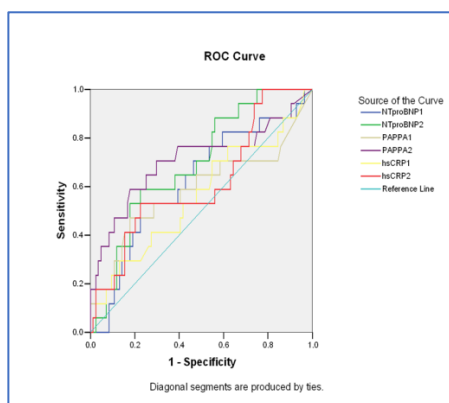
При анализа на биохимичните маркери в двете групи се установиха статистически значими разлики в биомаркерите за некроза, дестабилизация на плаките, хемодинамичен стрес и левокамерна дисфункция.

	Tn>5xUNL	Tn<5xUNL	p
СК <sub>1</sub>	191±206	123±75	0.021
СК <sub>2</sub>	256±183	118±82	0.007
СКМВ <sub>1</sub>	34±44	16±5	0.001
СКМВ <sub>2</sub>	31±16	16±5	0.002
TnT <sub>2</sub>	.241±.214	.029±.026	0.001
РАРРА <sub>1</sub>	9.45±11.47	5.53±1.97	0.004
РАРРА <sub>2</sub>	11.18±9.88	5.97±1.96	0.045

$\Delta$ СК	65±140	-5±65	0.002
$\Delta$ СК%	99±140	0±51	0.001
$\Delta$ СКМВ%	45±80	0±31	0.037
$\Delta$ NTproBNP	35±67	3±37	0.005
$\Delta$ NTproBNP%	110±196	26±57	0.001
$\Delta$ PAPPA	1.73±5.22	.43±1.20	0.043
$\Delta$ PAPPA%	33±52	10±23	0.005

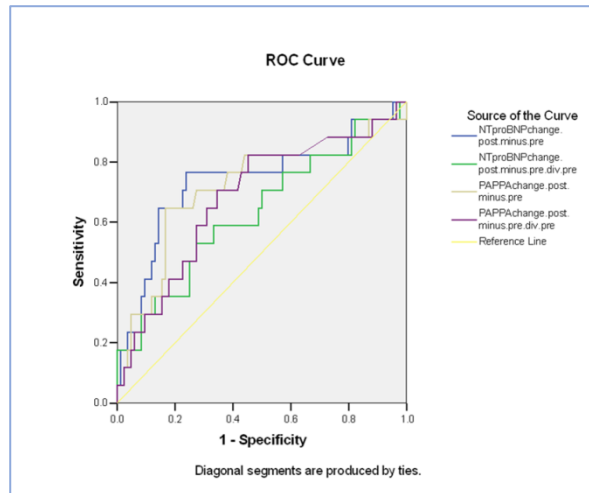
За да се идентифицират предикторите сред биохимичните маркери със съответните гранични стойности, ние извършихме ROC анализ на абсолютните и делта стойности.

От анализа на абсолютните стойности бяха изолирани 2 независими предиктора : **NTproBNP<sub>2</sub>** и **PAPPA<sub>2</sub>** с нива на значимост по-ниски от размера на стандартната грешка алфа:



Променлива	Площ AUC	Стандартна грешка (a)	Значимост (b)	95% Доверителен интервал	
				Долна граница	Горна граница
NTproBNP <sub>1</sub>	0.618	0.075	0.127	0.470	0.765
NTproBNP <sub>2</sub>	0.694	0.064	0.012	0.567	0.820
PAPPA <sub>1</sub>	0.587	0.090	0.260	0.410	0.764
PAPPA <sub>2</sub>	0.707	0.083	0.007	0.545	0.870
hsCRP <sub>1</sub>	0.561	0.082	0.432	0.400	0.721

От анализа на делта-стойностите бяха добавени още 3 независими предиктора -  **$\Delta$ NTproBNP**,  **$\Delta$ PAPPA** и  **$\Delta$ PAPPA%**.



Променлива	Площ	Станд. грешка(a)	Значимост (b)	95% Доверителен интервал	
				Долна граница	Горна граница
$\Delta$ NTproBNP	0.738	0.077	0.002	0.587	0.889
$\Delta$ NTproBNP%	0.633	0.079	0.085	0.478	0.788
$\Delta$ PAPPA	0.722	0.076	0.004	0.574	0.871
$\Delta$ PAPPA%	0.683	0.074	0.018	0.538	0.828

От ROC анализа бяха определени и техните критични стойности със определяне на процентите чувствителност и специфичност:

1. NTproBNP<sub>2</sub> - AUC = 0.694, p = 0.012, COV 75 pmol/L, 57%/ 82%
2. PAPPA<sub>2</sub> - AUC = 0.707, p = 0.007, COV 6.67 mIU/L, 71%/ 72%.
3.  $\Delta$ NTproBNP - AUC = 0.738, p=0.002, COV=16.5pmol/L, 65%/ 86%
4.  $\Delta$ PAPPA - AUC = 0.722, p = 0.004, COV = 1.05 mIU/L, 65%/ 84%
5.  $\Delta$ PAPPA% - AUC = 0.683, p = 0.018, COV = 15%, 59%/ 74%

За извеждането на алгоритъм за идентифициране на рискови пациенти по отношение възникване на мионекроза постпроцедурно бе извършен множествен логистичен регресионен анализ с включени ангиографски, процедурни и биохимични променливи- от тях с най-голямо значение се откриха 3 параметъра :

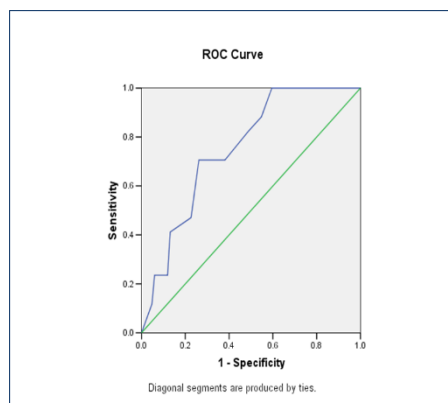
1. Многоклонова болест - OR = 3.853, CI 1.425 - 10.419, p=0.004
2. PAPPA<sub>2</sub> - OR = 1.422, CI 1.120 - 1.807. p = 0.007
3. Постдилатация на основен съд - OR = 0.5, CI 0.007 -0.340, p =0.002

Беше приложен **методът на пропорционален риск (hazard ratio)** за оценка на предсказваща сила на отделните показатели и определени рискови коефициенти (OR) - на базата на тези коефициенти при конструирането на алгоритъма са определени :

- 8 дяла на наличието на многоклонова болест
- 3 дяла на стойности на PAPPA следпроцедурно над 6.67 mIU/L
- 1 дял за прилагане на постдилатация след процедурата

На различните нива пропорционален риск с използване на т.н. **статистическо число на Wald** се приписват точкови стойности, отговарящи на статистическата сила на предсказване на използваната променлива - **точковите стойности на предсказващият алгоритъм варират между 6 и 28 точки.**

За определяне на критичните му стойности бе извършен **ROC-анализ:**



**PNP - AUC=0.752, p=0.001 ; COV>17 точки - 71% ; 74%.**

При групата с **PNP > 17** честотата на следпроцедурната некроза е била **пет пъти по-висока - 35,3%**, докато при тези с по-малко от тази стойност е била **7,5%** като разликата е статистически значима - **p <0,001.**

#### **D. Определяне честота на смърт и MACE с извеждане на предиктори за смъртност**



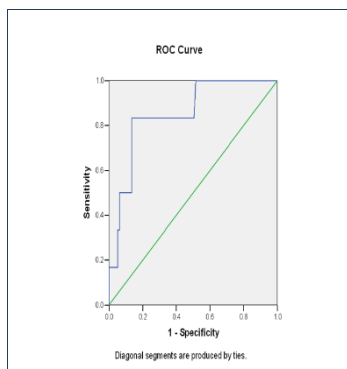
**Смъртността е била 6% (n = 6/103) за период от 18 ± 8 месеца.**

**Общата MACE честота е 11% (n = 11/103).**

Честотата на неблагоприятните сърдечни събития - повторна интервенция (TLR), хоспитализация заради сърдечна недостатъчност (A & NOCHF) и спонтанни инфаркти на миокарда (MI) - са регистрирани само при пациенти с коронарни

бифуркационни лезии, които са най-голямата група - **TLR 6% (n = 4/70), A & NOCHF 19% (n = 13/70), MI 3 % (n = 2/71).**

С помощта на корелационен и регресионен анализ бяха изолирани **предиктори за смъртност** с определяне на граничните им стойности чрез ROC анализ и анализ на **18-месечната смъртност** в групите със стойности над и под критичните. Откриха се два параметъра от групата на биохимичните маркери - **PAPPA<sub>2</sub>** и **PAPPA<sub>1</sub>.**



**PAPPA<sub>1</sub>** - AUC = 0.841, p = 0.005, **COV >5.300** mIU/L, 100% /63%;

12.2% срещу 1.6%, p = 0.025

**PAPPA<sub>2</sub>** - AUC = 0.851, p = 0.004, **COV >8.330** mIU/L, 83% / 87%

23,5% срещу 2,3% , p = 0.001

Други важни предиктори за смъртност са :

1. **cTnT<sub>1</sub>** - AUC=0.754, p=0.037, COV>0.032 ng/ml, 67% / 94%

**28.6%** срещу **4.2%**, **p = 0.008**

2. **NTproBNP<sub>1</sub>**- AUC=0.742, p=0.047, COV>128 pmol/L, 67% / 86%.

**23,2%** срещу **3,4%**

3. **Двоен продукт (DP)** - AUC=0.810, p = 0.021, COV> 8850, 72%/ 80%;

**1.7%** срещу **14.8%**, **p = 0.015**

4. **SBP** - AUC=0.894, p=0.003, **SBP>120mmHg**, 83% /100%;

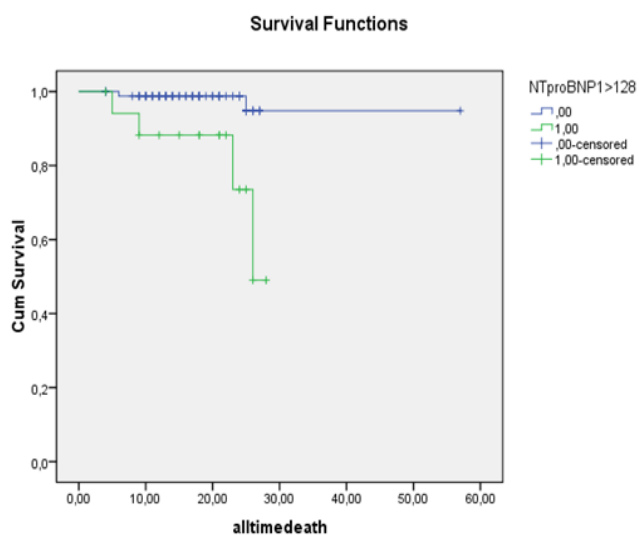
**0%** срещу **5,7%**, **p <0.001**

5. **DBP** - AUC = 0.888, p = 0.004, **DBP>71mmHg**, 90% / 80%

**1.4%** срещу **28.6%**

За оценка влиянието на отделните параметри върху преживяемостта се построиха **Каплан – Майер криви на прживяемостта** с лог – ранг тест за оценка на статистическата разлика. От анализа се установи статистическа значимост на 4 параметъра:

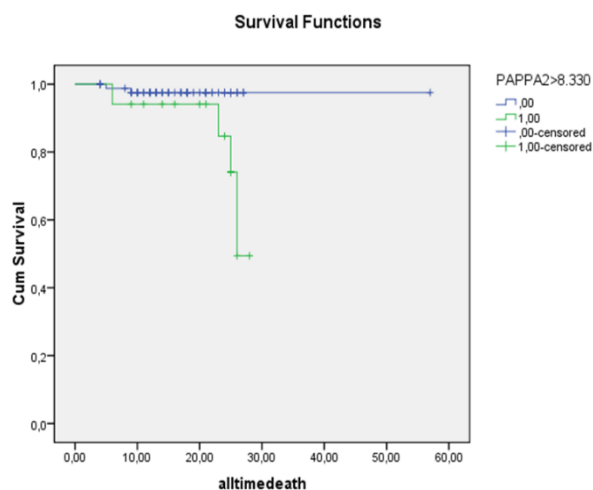
## 1. NTproBNP<sub>1</sub>



Цялостно сравнение			
	Chi-Square	df	
<b>Log Rank (Mantel-Cox)</b>	10,095	1	0,001

Обобщена обработка				
NTproBNP <sub>1</sub> > 128 pmol/L	Общо( N)	Събития (N)	Цензурирани (преживели)	
			N	Проценти
<b>0,00</b>	85	2	83	<b>97,6%</b>
<b>1,00</b>	18	4	14	<b>77,8%</b>
<b>Общо</b>	103	6	97	94,2%

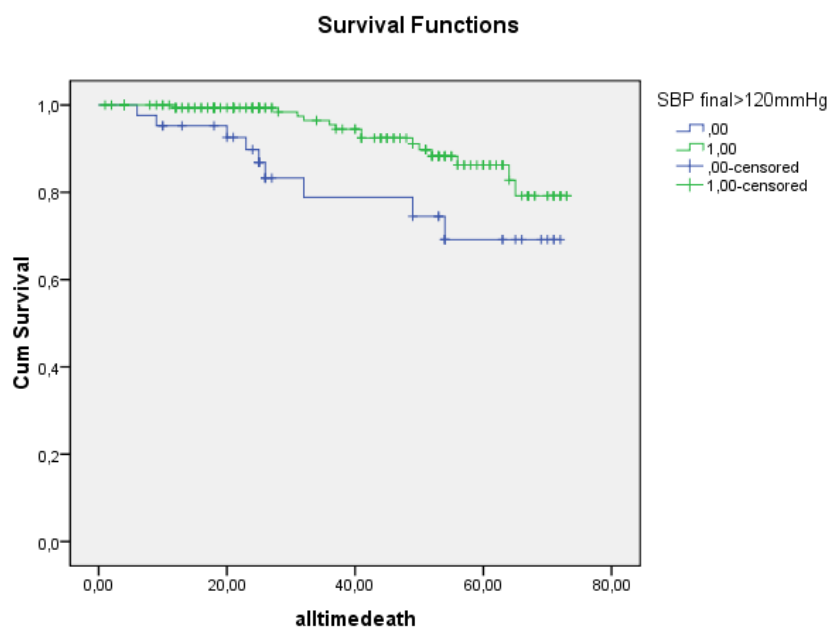
## 2.PAPPA<sub>2</sub>



<b>Цялостно сравнение</b>			
	Chi-Square	df	Sig.
<b>Log Rank (Mantel-Cox)</b>	7,191	1	0,007

<b>Обобщена обработка</b>				
<b>PAPPA<sub>2</sub> &gt;.8.330 mIU/L</b>	Общо ( N)	Събития (N)	Цензурирани (преживели)	
			N	Проценти
<b>0,00</b>	86	2	84	<b>97,7%</b>
<b>1,00</b>	17	4	13	<b>76,5%</b>
<b>Overall</b>	103	6	97	94,2%

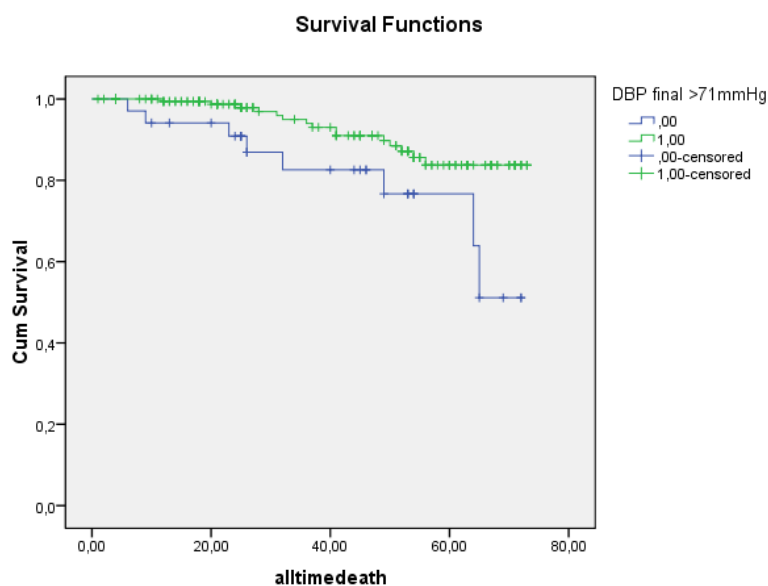
### 3.SBP final (Систолно кръвно налагане в края на процедурата)



	Chi-Square	df	Sig.
<b>Log Rank (Mantel-Cox)</b>	6,250	1	0,012

<b>Обобщена обработка</b>				
<b>SBP.final &gt;120 mm Hg</b>	Общо( N)	Събития (N)	Цензурирани (преживели)	
			N	Процент
<b>0,00</b>	45	9	36	<b>80,0%</b>
<b>1,00</b>	180	14	166	<b>92,2%</b>
<b>Overall</b>	225	23	202	89,8%

#### 4. DBP (Диастолно кръвно налягане в края на процедурата)



Цялостно сравнение			
	Chi-Square	df	Sig.
<b>Log Rank (Mantel-Cox)</b>	5,788	1	0,016

Обобщена обработка				
DBP.final. >71 mm Hg	Общо( N)	Събития (N)	Цензурирани (преживели)	
			N	Процент
<b>0,00</b>	36	8	28	<b>77,8%</b>
<b>1,00</b>	189	15	174	<b>92,1%</b>
<b>Overall</b>	225	23	202	89,8%

Цялостният анализ на данните по отношение на преживяемост и смъртност показва, че **стойностите на RARRA преди и след PCI, са предиктор за смъртност.** Те корелират със стойностите на тропонина, който е маркер от най-висок клас по отношение стратификацията на риска.

## ИЗВОДИ:

1. Верификацията на преднекротични и некротични маркери отговаря на международните критерии, доказва постигането на декларираните аналитични характеристики и гарантира високата диагностична надеждност на клиничното проучване.
2. Сравнителното проспективно проучване на преднекротични и некротични сърдечни маркери показва три важни зависимости:
  - а) след PCI винаги се наблюдава повишаване на **hsTNT** и **PAPPA**;
  - б) при **комплексни** лезии повишението винаги е **по-голямо**;
  - в) **по-високите базисни нива** са свързани и с **по-високи нива след процедурата**.
3. Установената високостепенна положителна корелационна зависимост между промените в интракоронарната ЕКГ и нивата на изследваните сърдечни маркери показва, че **получените исхемични промени се регистрират надеждно с лабораторни показатели**. Всички пациенти с ST-промени в края на PCI имат по-високи **СКМВ** и **NTproBNP предпроцедурно** - стойността на тези маркери е **предупредителен знак за процедурни и постпроцедурни проблеми**. Рискът за постпроцедурни усложнения се повишава при комбинирани лезии и остатъчна исхемия от страничен клон и това повишение се регистрира от промени в стойностите на hsTNT и СКМВ.
4. Честотата на перипроцедурната некроза, определена чрез сигнификантно повишение на hsTNT, е **15%** и тя може да се предскаже надеждно с лабораторните показатели **NTproBNP<sub>2</sub>** и **PAPPA<sub>2</sub>**.
5. Честотата на смъртност е **6%**, а на големите неблагоприятни сърдечни събития **-11%**. Като предиктори за средносрочна смъртност достигнаха статистическа значимост биохимичните маркери PAPPA, hsTNT и NTproBNP, изследвани предпроцедурно и PAPPA, изследван постпроцедурно. **За първи път се установява, че стойностите на PAPPA, както преди, така и след PCI, са предиктори за смъртност**.
6. Създаден е предсказващ алгоритъм PNP (**Postdilatation-NVD-PAPPA**) за откриване на високорискови пациенти, заплашени от перипроцедурни усложнения, включващ три показателя - наличие на многоклонова болест, следпроцедурни нива на PAPPA > 6.67 mIU/L и следдилатиране на основен съд - в съотношение 8:3:1. Точковата оценка на алгоритъма варира между 6 и 28 с критична стойност **17**, над която честотата на перипроцедурната некроза е пет пъти по-висока.

## ПРИНОСИ :

### ТЕОРЕТИЧНИ:

1. За първи път се установява, че стойностите на PAPPА, както преди, така и след РСІ, са предиктори за смъртност.
2. Биохимичните маркери **PAPPА**, **hsTNT** и **NTproBNP** достигат значимост и се категоризират като предиктори за средносрочна смъртност.
3. Създаден е **предсказващ алгоритъм** за откриване на високорискови пациенти включващ три показателя - наличие на многоклонова болест, следпроцедурни нива на PAPPА и следдилатиране на основен съд. Изработена е точкова оценка на алгоритъма с критична стойност, над която честотата на перипроцедурната некроза е пет пъти по-висока.

### ПРАКТИЧЕСКИ

1. Извършена е верификация на някои преднекротични и некротични маркери като платформа за надеждна лабораторна оценка на последователността, тежестта и прогресията на острия коронарен синдром и миокардния инфаркт в условия на инвазивна кардиологична терапия.
2. Проспективният анализ на проучените преднекротични и некротични маркери и тясната корелация на техните промени с интракоронарната ЕКГ доказва, че динамичните промени в хода на ОКС и извършваните инвазивни процедури, се регистрират надеждно с лабораторни показатели. Тези показатели обективизират риска на процедурата, комплексността на лезиите и прогнозата за пациента.
3. Установената честота на перипроцедурната некроза (15%) не надхвърля средната честота по литературни данни, отразява високото професионално равнище на инвазивната терапия и може да се предскаже надеждно с лабораторни показатели.

## ПУБЛИКАЦИИ :

1. Emilova, Nia; Denchev, Stefan; Abrashev, Radoslav; **Tsakova Adelina**; Stoycheva Milena; Krumova Ekaterina Prognostic significance of extracellular superoxide dismutase in acute coronary syndrome – gender-specific aspects By: Comptes rendus de L Academie Bulgare des Sciences Volume: 68 Issue: 4 Pages: 529-536 Published: 2015
2. A Gateva, Z Kamenov, A **Tsakova** NT-proBNP levels in premenopausal women with polycystic ovarian syndrome and/or obesity. Journal of obstetrics and

gynaecology: the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology 11/2013; 33(8):868-72.

3. Н. Емилова, **А. Цакова**, П. Петров, Т. Кундурджиев, С. Денчев, С. Димитров, М. Господинова, М. Григоров и Т. Драганов. Промени в сърдечната честота и показатели на камерната реполяризация в острата фаза на коронарен синдром – връзка с пола и плазмените нива на половите хормони Медицински преглед vol. L II 2016 №2- 29-37

#### УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ:

1. Vassilev D., Karamfiloff K., Dosev L., Stoykova J., Naunov V., Svinarov D., **Сакова А.**, Rigatelli G., Gil R. : Angiographic severity scores (BARI and APPROACH) predict revascularisation rates at mid-term follow-up (up to 60-months) after stenting coronary bifurcation lesions insights from intracoronary electrocardiogram and myonecrosis after bifurcation stenting (COSIBRIA&CO) (Oral Presentation) EuroPCR 2017, 16-19 May 2017, Paris; Abstract number: Euro17A-OP0887
2. Vassilev D., Karamfiloff K., Dosev L., Stoykova J., Naunov V., Svinarov D., **Сакова А.**, Rigatelli G., Gil R.: Occlusion of secondary side branches predicts revascularisation rates at mid-term follow-up (up to 60-months) after stenting coronary bifurcation lesions from intracoronary electrocardiogram and myonecrosis after bifurcation stenting (COSIBRIA&CO) ( Poster) EuroPCR 2017, 16-19 May 2017, Paris; Abstract number: Euro17A-POS0885
3. Vassilev D., Karamfiloff K., Dosev L., Stoykova J., Naunov V., Svinarov D., **Сакова А.**, Rigatelli G., Gil R: Restenotic lesions involving side branches predict future congestive heart failure and angina symptoms rates after stenting coronary bifurcation lesions - Insights from intracoronary electrocardiogram and myonecrosis after bifurcation stenting (COSIBRIA&CO) (Poster) EuroPCR 2017, 16-19 May 2017, Paris; Abstract number: Euro17A-POS0892
4. **Цакова А.** : Роля на високосензитивните тропонинови тестове за ранна диагноза на ОКС – достатъчен ли е 1 час за safe rule out и accurate rule in (доклад) Научен симпозиум Остър коронарен синдром 22-24 април 2016 г. – Пловдив
5. **Цакова А.**, Досев Л., Василев Д., Свинаров Д. Биомаркери за дефиниране, стратификация и проследяване на перипроцедурна некроза след перкутанна коронарна интервенция (постер) X Национален конгрес по клинична лаборатория в к.к. Боровец 7-9 септември 2017 г. постер № D11

