

## Oxidačný stres po izolácii pľúcnych žíl: Deterioračný alebo protektívny faktor?

Böhm A<sup>1,2</sup>, Tóthová L<sup>3,4</sup>, Urban L<sup>1</sup>, Slezák P<sup>5</sup>, Bacharová L<sup>5,7</sup>, Musil P<sup>6</sup>, Cvičela M<sup>8</sup>, Hatala R<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Národný ústav srdcových a cievnych chorôb, Bratislava, Slovenská republika

## Oxidative stress after pulmonary veins isolation: Deteriorative or protective factor?

Böhm A<sup>1,2</sup>, Tothova L<sup>3,4</sup>, Urban L<sup>1</sup>, Slezak P<sup>5</sup>, Bacharova L<sup>5,7</sup>, Musil P<sup>6</sup>, Cvicela M<sup>8</sup>, Hatala R<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Cardiovascular Diseases, Bratislava, Slovak Republic

Böhm A, Tóthová L, Urban L, Slezák P, Bacharová L, Musil P, Cvičela M, Hatala R. **Oxidačný stres po izolácii pľúcnych žíl: Deterioračný alebo protektívny faktor?** Cardiology Lett. 2016;25(5):353–364

**Abstrakt.** Úvod: Vzťah medzi oxidačným stresom a fibriláciou predsiení je dobre známy. Cieľom nášho výskumu bolo študovať vzťah medzi množstvom atriálnej fibrilácie (AF burden), definovanej ako percento času, počas ktorého je pacient vo fibrilácii predsiení a koncentráciou biomarkerov oxidačného stresu pred a po katérovej izolácii pľúcnych vén (PVI).

**Metodika:** Do štúdie sme zaradili 19 pacientov (priemerný vek  $55 \pm 10$  rokov, štyri ženy a 15 mužov) s implantovaným slučkovým rekordérom podstupujúcich PVI. Merali sme plazmatickú koncentráciu koncových produktov pokročilej glykácie (AGEs), fruktozamínu (FR), produktov pokročilej oxidácie bielkovín (AOPP) a reaktívnych zlúčenín tiobarbiturovej kyseliny (TBARS). AF burden bol zaznamenaný bezprostredne pred, tri a potom deväť mesiacov po PVI.

**Výsledky:** Postprocedurálna koncentrácia AGEs významne negatívne korelovala s AF burden po troch ( $p = -0,63$ ;  $p < 0,01$ ) a deviatich mesiacoch ( $p = -0,5$ ;  $p = 0,04$ ), rovnako ako aj koncentrácia TBARS významne negatívne korelovala s AF burden po deviatich mesiacoch ( $p = -0,61$ ;  $p = 0,01$ ).

Böhm A, Tothova L, Urban L, Slezak S, Bacharova L, Musil P, Cvicela M, Hatala R. **Oxidative stress after pulmonary veins isolation: Deteriorative or protective factor?** Cardiology Lett. 2016;25(5):353–364

**Abstract.** Introduction: There is a well-known relation between oxidative stress and atrial fibrillation. The aim of our research was to study the relation between the percentage of time spent in atrial fibrillation (AF burden) and concentrations of oxidative stress biomarkers, before and after pulmonary veins isolation (PVI).

**Methodology:** We included 19 patients (mean age  $55 \pm 10$  years, 4 females and 15 males) with implanted loop recorders undergoing PVI. Plasmatic concentrations of advanced glycation end-products (AGEs), fructosamine, advanced oxidation protein products and thiobarbituric-acid reacting substances (TBARS) were measured and AF burden was recorded immediately before and 3 months after the PVI. AF burden was also recorded 9 months after the PVI.

**Results:** Post procedural AGEs concentration significantly negatively correlated with AF burden after 3 months ( $p = -0.63$ ;  $p < 0.01$ ) and 9 months ( $p = -0.5$ ;  $p = 0.04$ ) respectively, as well as TBARS concentration significantly negatively correlating with AF burden after 9 months ( $p = -0.61$ ;  $p = 0.01$ ).

Z <sup>1</sup>Národného ústavu srdcových a cievnych chorôb, a.s., Bratislava, <sup>2</sup>Lekárskej fakulty, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava, <sup>3</sup>Ústavu Molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, <sup>4</sup>Centra Molekulárnej medicíny, Slovenská akadémia vied, Bratislava, <sup>5</sup>Lekárskej fakulty, Univerzita Komenského, Bratislava, <sup>6</sup>Farmakologickej fakulty, Univerzita Komenského, Bratislava, <sup>7</sup>Medzinárodného laserového centra, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovenská republika a <sup>8</sup>NEMOS GROUP, a.s. Nemocnice Sokolov, s.r.o., Sokolov, Česká republika

Do redakcie došlo dňa 2. mája 2016; prijaté dňa 12. mája 2016

**Adresa pre korešpondenciu:** MUDr. Allan Böhm, MBA, Medená 18, 811 02 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: allan.bohm@gmail.com

From <sup>1</sup>National Institute of Cardiovascular Diseases, Bratislava, <sup>2</sup>Faculty of Medicine, Slovak Medical University, Bratislava, <sup>3</sup>Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava, <sup>4</sup>Center for Molecular Medicine, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, <sup>5</sup>Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava, <sup>6</sup>Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, <sup>7</sup>International Laser Center, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic and <sup>8</sup>NEMOS GROUP, a.s., Hospital Sokolov, s.r.o., Czech Republic

Manuscript received May 2, 2016; accepted for publication May 12, 2016

**Address for correspondence:** Allan Böhm, MD, MBA, Medena 18, 811 02 Bratislava, Slovak Republic, e-mail: allan.bohm@gmail.com

**Záver:** Naša štúdia ukázala AGEs a TBARS ako potenciálne indikátory AF burden po PVI. Predpokladáme, že čím je väčší oxidačný stres vyvolaný PVI, tým je vyššia produkcia fibrotického tkaniva. To znamená, lepšiu elektrickú izoláciu pľúcnych žíl a následne aj nižší AF burden. Tab. 5, Obr. 3, Lit. 16, Online full text (Free, PDF) [www.cardiology.sk](http://www.cardiology.sk)

**Kľúčové slová:** fibrilácia predsiení – biomarkery oxidačného stresu – implantovateľný loop recorder – rádiový katéterová ablácia

**Conclusion:** Our study showed AGEs and TBARS to be potential predictors for AF burden after the PVI. We suppose that the more oxidative stress after the PVI is provoked, the more fibrotic tissue is produced. That means a better electrical isolation of pulmonary veins and consequently a lower AF burden. Tab. 5, Fig. 3, Ref. 16, Online full text (Free, PDF) [www.cardiology.sk](http://www.cardiology.sk)

**Key words:** Atrial fibrillation – Oxidative stress biomarkers – Implantable loop recorder – Radiofrequency catheter ablation

## Dôležité zistenia

- Biomarkery oxidačného stresu AGEs a TBARS negatívne korelujú s AF burden po izolácii pľúcnych žíl rádiovým katétrom.
- Oxidačný stres po izolácii rádiovým katétrom môže zohrávať dôležitú úlohu v účinnosti elektrickej izolácie pľúcnych žíl.
- Biomarkery oxidačného stresu môžu byť užitočné pri predvídaní fibrilácie predsiení po katétrovej ablácii.

Súčasná paradigma tvrdí, že medzi oxidačným stresom a fibriláciou predsiení (FP) je významný vzťah. Viaceré štúdie preukázali, že prevalencia a prognóza FP sú spojené so sérovými hladinami zápalových biomarkerov, ako C-reaktívny proteín, faktor nekrotizujúci nádory (TNF $\alpha$ ), interleukín-2, interleukín-6, interleukín-8 (1, 2). Následkom zápalového procesu je tvorba voľných radikálov, ktoré vedú k zvýšeniu oxidačného stresu, ktorý je dôležitým patologicko-fyziologickým mechanizmom v etiológii a pretrvávajúcej FP (3). Niektoré štúdie preukázali výrazný nárast oxidačného poškodenia pri FP v porovnaní so sínusovým rytmom. Okrem toho, génová expresia spojená s produkciou reaktívnych metabolitov kyseliny bola pri FP zvýšená (4, 5, 6).

Ablácia rádiovým katétrom predstavuje úspešnú liečebnú stratégiu FP (7, 8). Predpokladá sa, že tento postup spôsobuje zápal s oxidačným stresom a potenciálnymi arytmogénnymi substrátmi, ktoré môžu viesť ku skorému alebo neskorému výskytu arytmie (9, 10).

Cieľom nášho výskumu bolo preštudovať vzťah medzi biomarkermi oxidačného stresu (OS) a AF burden, zaznamenaným implantovaným slučkovým rekordérom (ILR), pred a po izolácii pľúcnych žíl abláciou rádiovým katétrom (PVI).

## Highlights

- Oxidative stress biomarkers AGEs and TBARS negatively correlate with atrial fibrillation burden after the radiofrequency catheter pulmonary veins isolation
- Oxidative stress after radiofrequency catheter isolation might play an important role in the efficacy of electrical isolation of the pulmonary veins
- Oxidative stress biomarkers might be useful in predicting atrial fibrillation after catheter ablation

The current paradigm claims a strong link between inflammation and atrial fibrillation (AF). Several studies showed that prevalence and prognosis of AF are both associated with serum levels of inflammatory biomarkers such as C-reactive protein, tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-2, interleukin-6, and interleukin-8 (1, 2). The consequence of the inflammatory process is a production of free radicals, which in turn leads to increased oxidative stress which seems to be an important pathophysiological mechanism in the etiology and sustainability of AF (3). Several studies showed a significant increase in oxidative damage in AF compared to sinus rhythm. Furthermore, gene expression associated with the production of reactive oxygen species was increased in AF (4, 5, 6).

Radiofrequency catheter ablation is an effective treatment strategy for AF (7, 8). However, it is thought that this procedure also induces inflammation with oxidative stress and potential arrhythmogenic substrates that may lead to an early or a late recurrence of arrhythmia (9, 10).

The aim of our research was to study the relation between the oxidative stress (OS) biomarkers and AF burden, detected by an implantable loop recorder (ILR), before and after radiofrequency catheter ablation with pulmonary veins isolation (PVI).

## Materiál a metódy

### Študovaná populácia, inklúzne a exklúzne kritériá

Štúdia bola navrhnutá ako prospektívna monocentrická štúdia. Celkovo zahŕňala 19 po sebe nasledujúcich pacientov (15

## Material and Methods

### Study population, inclusion and exclusion criteria

The study was designed as a prospective monocentric study. A total 19 consecutive patients (15 males and 4 females)

mužov a 4 ženy) so symptomatickou FP po PVI vykonanej v Národnom ústave srdcových a cievnych chorôb na Slovensku.

Inklúzne kritériá predstavovali: Vek 18 rokov alebo viac; plánované PVI; implantované ILR najmenej dva mesiace pred PVI; symptomatickú a na liečbu neodpovedajúcu paroxysmálnu FP charakterizovanú spontánnym ukončením do siedmich dní od začiatku alebo perzistujúcu FP trvajúcu viac ako sedem dní (ale nie viac ako 40 dní), alebo so spontánnou, alebo farmakologickou či elektrickou kardioverziou na sínusový rytmus zdokumentovanú pred implantáciou ILR; trvalú a účinnú perorálnu antikoaguláciu warfarínom (INR 2–3) najmenej jeden mesiac pred PVI; schopnosť a ochotu pacientov na poskytnutie písomného súhlasu so štúdiou; antiarytmickú terapiu betablokátorom a amiodarónom začatú najneskôr tri mesiace pred a najmenej tri mesiace po PVI. Charakteristiky populačnej štúdie sú uvedené v **tabuľke 1**.

Vylučovacie kritériá predstavovali: pacienti s predchádzajúcou katéetrovou abláciou, implantovaným kardioštimulátorom alebo ICD; pacienti s predpokladanou väčšou kardiologickou operáciou počas konania tejto štúdie, stabilnou angínou pectoris funkčnej triedy (CCS: 3–4) alebo nedávny akútny koronárny syndróm; infarkt myokardu v období troch mesiacov pred implantáciou ILR; srdcové zlyhanie (NYHA: III–IV); históriu akútneho alebo chronického zápalového ochorenia; chronické ochorenie obličiek; trombus v ľavej predsieni zistený transesofageálnou echokardiografiou pred PVI a nekontrolovanú hypertyreózu.

Štúdiu schválila etická komisia Národného ústavu srdcovo cievnych chorôb na Slovensku a od všetkých pacientov bol pred zaradením do štúdie získaný písomný informovaný súhlas.

### Ablácia rádiofrekvenčným katétrom s izoláciou pľúcnych žíl (PVI)

Pacienti ostali na svojej pôvodnej antiarytmickej terapii pred začatím štúdie. Účinné perorálne antikoagulanciá (INR

with symptomatic AF undergoing PVI in the Slovak National Institute of Cardiovascular Diseases were included.

The inclusion criteria were: Age 18 or greater; planned PVI; implanted ILR at least 2 months before the PVI; symptomatic and drug refractory, paroxysmal AF characterized by spontaneous termination within 7 days of onset or persistent AF lasting more than 7 days (but not more than 40 days) with either spontaneous or pharmacological or electrical cardioversion to sinus rhythm documented prior to the ILR implantation; continuous, effective oral anticoagulation with warfarin (INR 2–3) at least one month prior to the PVI; ability and willingness of the patients to provide written informed consent with the study; antiarrhythmic therapy with beta blocker and amiodarone started at least 3 months before ILR implantation and continued at least 3 months after the PVI. Characteristics of the study population are presented in **Table 1**.

Patients with previous catheter ablation; implanted pacemaker or ICD; anticipating major cardiac surgery within the course of this study; stable coronary artery disease functional class (CCS: 3–4) or recent acute coronary syndrome; myocardial infarction within three months prior to the ILR implantation; heart failure (NYHA: III–IV); history of acute or chronic inflammatory disease; chronic kidney disease; left atrial thrombus detected by transesophageal echocardiography prior to the PVI and uncontrolled hyperthyroidism were excluded.

The study was approved by the ethical committee of the Slovak National Institute of Cardiovascular Diseases and a written informed consent was obtained from all patients before the study inclusion.

### Radiofrequency catheter ablation with pulmonary veins isolation (PVI)

Patients remained on their original antiarrhythmic therapy treatment before the study. Effective oral anticoagulation

**Tabuľka 1 Popisná štatistika**

**Table 1** Descriptive statistics of the study population

| <b>Základná charakteristika</b> (Baseline characteristics)                    | <b>Spolu</b> (Total) (n = 19) |
|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Vek (roky) (Age in years)                                                     | 55 ± 10                       |
| Ženské pohlavie, počet (%) (Female gender, no. (%))                           | 4 (21 %)                      |
| <b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>                                                 | 28,5 ± 4,2                    |
| História FP pred PVI (roky) (AF history before PVI (years))                   | 6,2 ± 4,5                     |
| Veľkosť LP pri PVI (mm) (LA size at PVI (mm))                                 | 44 ± 4                        |
| Arteriálna hypertenzia, počet (%) (Arterial hypertension, no. (%))            | 16 (84 %)                     |
| Stabilná angína pectoris, počet (%) (Stable coronary artery disease, no. (%)) | 3 (16 %)                      |
| CMP, počet (%) (Stroke, no. (%))                                              | 1 (5 %)                       |
| Diabetes mellitus, počet (no) (%)                                             | 0 (0 %)                       |
| Zlyhanie srdca, počet (%) (Heart failure, no. (%))                            | 0 (0 %)                       |
| Fajčenie, počet (%) (Smoking, no. (%))                                        | 0 (0 %)                       |

2–3) boli podané všetkým pacientom. Bezprostredne pred abláciou (ABL) bola vykonaná transesofageálna echokardiografia na vylúčenie zrazeniny v ľavej predsieni (LA). Všetkým pacientom bolo zrealizované CT vyšetrenie na zdokumentovanie ich individuálnej anatómie LA.

Pred samotnou FP ABL všetci pacienti podstúpili kompletné elektrofyziologické vyšetrenie na vylúčenie iných arytmií ako FP. Počas výkonu ABL FP bol vložený jeden kvadripolárny diagnostický katéter 6Fr (Supreme™, SJM, USA) cez pravú femorálnu žilu do oblasti Hisovho zväzku. Dekapolárny diagnostický katéter 6Fr (Response™, SJM, USA) bol umiestnený cez pravú jugulárnu venu do koronárneho sínusu. Fluoroskopicky vedená dvojité transseptálna punkcia sa uskutočnila Brockenbroughovou ihlou (BK1) zavedenou cez pravú femorálnu žilu, cez 8.5 Fr dlhý plášť (SL1, SJM, USA) kontinuálne preplachovaný heparinizovaným roztokom. Dva pevné oblé plášte alebo otáčateľný transseptálny plášť (AGILIS, SJM, USA) sa použili na vstup do LP a na stabilizáciu obvodového mapovacieho katétra (Lasso, Biosense-Webster, USA) a zvlhčovaný hrot ablačného katétra (NaviStar Thermocool, Biosense-Webster, USA alebo Therapy Cool Path, SJM, USA) v LP. V prípadoch so zložitou anatómiou LP operačný výkon bol usmerňovaný intrakardiálnou echokardiografiou. V priebehu celého výkonu sa každých 20 minút meral aktivovaný koagulačný čas (ACT), ktorý sa pohyboval medzi 250 až 300 s.

Konštantne sa monitorovali povrchové EKG a bipolárne endokardiálne elektogramy, ktoré sa následne uložili v počítači/nahrávacom systéme (PRUCKA, GE, USA alebo AXIOM Sensis, Siemens, Nemecko). Výkon sa zrealizoval pri analgo-sedatívnom vedomí, v prípade potreby s použitím midazolamu, propofolu alebo fentanylu pre neznesiteľné bolesti počas ABL.

Elektroanatomický mapovací systém (CARTO, Biosense-Webster or NavX, SJM) vytvoril trojrozmernú mapu na podporenie a overenie rádiových frekvencií (RF) lézií počas ABL. U pacientov s výlučnými epizódami FP ABL pozostávalo iba z odpojenia pľúcnych žíl (PV), vytvorením vodivého bloku cirkulárnych línií okolo každého ústia PV.

Rádiových frekvencií impulzy boli vyprodukované prostredníctvom Stockert (Biosense-Webster, USA) alebo IBI Therapy generátorom (Irvine Biomedical, Inc.), použitím irrigated-tip katétra s meniteľnou teplotou limitovanou na 43 °C, použitím maximálneho výkonu 40 W a irigačnou rýchlosťou až 20 ml/min v LP alebo 30 ml/min v PP. Odpojenie PV potvrdilo zrušenie alebo disociáciu miestnych PV potenciálov na obvodovom mapovacom katétri umiestnenom v oblasti každého ústia PV. Odpojenie PV, ktoré pretrvávalo počas FP viac ako 30 minút po skončení poslednej RF aplikácie, muselo byť tiež potvrdené sínusovým rytmom. Ďalšie LP lineárne lézie (LP strechovité línie, línie mitrálneho istmu – medzi mitrálnym medzikružím a ľavou zadnou pľúcnou žilou), ako aj kavotrikuspidálne istmy ABL boli vykonané u pacientov

(INR 2–3) was administered to all patients. Transesophageal echocardiography for exclusion of left atrium (LA) thrombus was performed immediately prior to the ablation (ABL). All patients underwent a contrast CT scan for documentation of individual LA anatomy.

A complete electrophysiological study was performed before entire AF ABL to exclude any other arrhythmia than AF. During the AF ABL procedure one 6Fr quadripolar diagnostic catheter (Supreme™, SJM, USA) was inserted via the right femoral vein to the His bundle area. A 6Fr decapolar diagnostic catheter (Response™, SJM, USA) was positioned in the coronary sinus via the right jugular vein. Fluoroscopically guided double transseptal puncture was performed by the Brockenbrough needle (BK1) inserted via the right femoral vein through an 8.5 Fr long sheath (SL1, SJM, USA) continuously flushed with heparinized normal saline. Two fixed curve sheaths or deflectable transseptal sheaths (AGILIS, SJM, USA) were used for entering LA and for stabilizing the circumferential mapping catheter (Lasso, Biosense-Webster, USA), and irrigated-tip ablation catheter (NaviStar Thermocool, Biosense-Webster, USA or Therapy Cool Path, SJM, USA) in the LA. In cases with difficult LA anatomy, intracardiac echocardiography was performed to guide the procedure. During the entire procedure, the activated clotting time (ACT) was measured each 20 minutes and maintained between 250 and 300s.

Surface ECGs and bipolar endocardial electrograms were monitored continuously and stored in a computer-based digital amplifier/recording system (PRUCKA, GE, USA or AXIOM Sensis, Siemens, Germany). The procedure was performed in an analgo-sedated conscious state, with addition of midazolam, propofol or fentanyl in the case of intolerable pain during the ABL.

An electroanatomic mapping system (CARTO, Biosense-Webster or NavX, SJM) generated a three-dimensional map to support the creation and validation of radio-frequency (RF) lesions during ABL. In patients with exclusively AF episodes, ABL consisted of pulmonary veins (PV) disconnection only, creating circular lines of conduction block around each PV ostium. Radiofrequency pulses were delivered through a Stockert (Biosense-Webster, USA) or IBI Therapy (Irvine Biomedical, Inc.) generator using irrigated-tip catheter in a temperature-controlled mode limited to 43 °C using a maximal power of 40W and an irrigation rate up to 20 ml/min. in LA or 30 ml/min. in RA. PV disconnection was confirmed by the abolition or dissociation of the local PV potentials on the circumferential mapping catheter placed in an ostial position of each PV. PV disconnection that persisted during AF more than 30 minutes after the last RF application had to be confirmed in sinus rhythm, too. Additional LA linear lesions (LA roof line, mitral isthmus line – between mitral annulus and left inferior pulmonary vein) as well as cavotricuspid isthmus ABL were performed in patients with

s históriou perzistentnej FP, ako aj u pacientov s pravidelnou predsieňovou tachyarytmiou, ktoré boli zdokumentované pred ABL na štandardnom EKG, pomocou ICM alebo počas celého výkonu ABL. Lineárne lézie sa uskutočnili anatomicky a ani jeden elektrický blok nebol vyhodnotený.

### Implantovateľný loop recorder (ILR)

Pre účely tejto štúdie, intrakardiálny monitor (ICM) Reveal® XT (Model 9529, Medtronic Inc. Minneapolis, MN) bol použitý na nepretržité monitorovanie EKG. Každému pacientovi bol implantovaný ICM niekoľko mesiacov pred výkonom s cieľom charakterizovať základný status FP. Všetky zariadenia boli zavedené podkožne v lokálnej anestézii do ľavej hornej prednej hrudnej oblasti paralelne ku hrudnej kosti. Po aktivácii zariadenia v operačnej miestnosti zostali všetky zisťované parametre na úvodnom nastavení. Podkožný ICM REVEAL XT je vybavený FP detekčným algoritmom, ktorý využíva nepravidelnosť alebo nesúvis v RR intervale, na zistenie prítomnosti epizód FP a na vyčíslenie AF burden, definovaného ako percento času stráveného vo fibrilácii predsiení. Automatická softvérová analýza kontinuálneho monitorovania EKG poskytuje niekoľko údajov, ktoré sú zozbierané a zobrazované na kardiálnom kompase počas každej kontroly (denný AF burden, hodiny vo FP počas jedného dňa, priemerná komorová frekvencia vo FP, priemerná denná/nočná srdcová frekvencia, variabilita srdcovej frekvencie, priemerný AF burden celkového sledovaného obdobia atď.). Vypočítaná životnosť batérie v ICM je tri roky a je MRI kompatibilná.

### Zber údajov a laboratórne metódy

Základné klinické údaje (tabuľka 1) od pacientov boli pozbierané jeden deň pred PVI. Informácie o AF burden boli prevzaté z ILR bezprostredne po zákroku, potom po troch a po deviatich mesiacoch po PVI (na konci sledovaného obdobia).

Periférna krv nalačno bola odobraná ráno do skúmaviek s K<sub>2</sub>EDTA, pred a tri mesiace po zákroku. Krv bola scentrifugovaná pri 5 000 ot/min počas piatich minút a získané vzorky plazmy sa skladovali pri teplote -20 °C. Koncové produkty pokročilej glykácie (AGEs), fruktozamín (FR), produkty pokročilej oxidácie bielkovín (AOPP) a reaktívne zlúčeniny tiobarbiturovej kyseliny (TBARS) sa merali spektrofotometrickými alebo spektrofotometrickými metódami. Analýza vzoriek bola na začiatku ukončená u všetkých pacientov okrem jedného. Po zákroku bola ukončená analýza vzoriek s výnimkou dvoch pacientov.

### Štatistické metódy

Kontinuálne premenné sú prezentované ako priemery a štandardné odchýlky, kým kategorické premenné sú uvedené v percentách. Vzťah medzi premennými sa hodnotil pomocou neparametrického Spearmanovho koeficientu korelácie  $\rho$ . Neparametrická Theil-Senová metóda sa pou-

history of persistent AF, as well as in patients with regular atrial tachyarrhythmias that were documented prior to the ABL on standard ECG, by ICM or during entire ABL procedure. Linear lines were performed anatomically, and no electrical block was assessed.

### Implantable loop recorder (ILR)

For the purpose of the study, the intra-cardiac monitor (ICM) Reveal® XT (Model 9529, Medtronic Inc., Minneapolis, MN) was used to perform continuous ECG monitoring. Each patient was implanted with the ICM several months before the procedure in order to characterize the baseline status of AF. All devices were inserted under local anesthesia subcutaneously in the left upper anterior chest region parallel to the sternum. Upon device activation in the operating room all detection parameters remained in the nominal settings. Subcutaneous ICM REVEAL XT is equipped with an AF detection algorithm that uses irregularity and incoherence of RR intervals to identify the presence of AF episodes and to quantify the AF burden defined as the percentage of time spent in atrial fibrillation. Automatic software analysis of continuous rolling ECG buffer provides several data that are displayed on Cardiac compass collected during each interrogation (daily AF burden, hours in AF in one day, average ventricular rate in AF, average day/night heart rate, heart rate variability, mean AF burden of the overall follow-up period, etc.). Calculated battery life of an ICM is 3 years and it is MRI safe.

### Data collection and laboratory methods

Baseline clinical data (Table 1) from the patients were collected one day before the PVI. Information about the AF burden was downloaded from the ILR immediately after the procedure, 3 months after and 9 months after the PVI (at the end of the follow-up).

Peripheral fasting blood was taken in the morning into K<sub>2</sub>EDTA tubes, before the procedure and 3 months after. The blood was centrifuged at 5000 rpm for 5 minutes and the obtained plasma samples were stored at -20 °C. Advanced glycation end-products (AGEs), fructosamine (FR), advanced oxidation protein products (AOPP) and thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) were measured by spectrophotometric or spectrofluorometric methods. The sample analysis was completed in all but one patient at the baseline. After the procedure the sample analysis was completed in all but two patients.

### Statistical methods

Baseline continuous variables are presented as means and standard deviations, whereas categorical variables are presented as percentages. The association between variables was assessed using the Spearman rank correlation coefficient  $\rho$ . The nonparametric Theil-Sen method was used

žila na odhad regresnej priamky na bodových diagramoch. Mann-Whitneyho test bol použitý na posúdenie rozdielov medzi postprocedurálnou AF burden v dvoch od seba nezávislých skupinách (s alebo bez ablačných lineárnych lézií a s a bez histórie perzistujúcej FP). Údaje sa analyzovali pomocou štatistického softvéru StatsDirect, verzia 3.0.161 (<http://www.statsdirect.com>).  $P \leq 0,05$  sa považuje za štatisticky významnú.

## Výsledky

### Základné vlastnosti

Našu skupinu tvorili štyri ženy a 15 mužov, s priemerným vekom  $55 \pm 10$  rokov. Najbežnejšou komorbiditou bola arteriálna hypertenzia, ktorá sa vyskytla takmer v 85 % prípadov. Nikto nemal diabetes mellitus ani zlyhanie srdca a nebol fajčiarom. Všetci pacienti boli liečení rovnakou terapiou kardioselektívnym dlhoočinkujúcim betablokátorom (metoprololom alebo bisoprololom), amiodarónom a warfarínom, najmenej tri mesiace pred implantáciou ILR do prvého sledovaného obdobia (tri mesiace po PVI). V prípade, že AF burden v prvom sledovacom období bola menej ako 1 %, bola ukončená terapia betablokátorom a amiodarónom (tabuľka 1).

Priemerný follow-up pred PVI bol 69 dní, po troch mesiacoch 94 dní a po deviatich mesiacoch po PVI 285 dní. Priemerný AF burden o tri mesiace po výkone klesol o 78 % a po deviatich mesiacoch o 35 % (tabuľka 2).

Po implantácii ILR sa len u jedného pacienta vyvinula perzistujúca FP s AF burden 97 %. Podrobnosti o jednotlivých AF burden, histórii perzistujúcich FP a lineárnych léziách sú uvedené v tabuľke 3.

### Vzťah medzi biomarkermi OS a AF burden

Neexistoval žiadny štatisticky významný vzťah medzi koncentráciou biomarkerov OS a AF burden pred PVI.

Avšak sme zistili štatisticky významnú negatívnu koreláciu medzi koncentráciou AGEs a AF burden ( $p = -0,63$ ;  $p < 0,01$ ,  $n = 17$ ) a nevýznamnú negatívnu koreláciu medzi koncentráciou TBARS a AF burden ( $p = -0,44$ ;  $p = 0,09$ ,  $N = 17$ ) po PVI (tabuľka 4 a obrázok 1).

to estimate regression line displayed on the scatterplots. The Mann-Whitney test was used to assess differences between post procedural AF burden in two independent groups (with and without ablative linear lesions and with and without history of persistent AF). Data were analyzed using StatsDirect statistical software version 3.0.161 (<http://www.statsdirect.com>).  $P \leq 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

### Baseline characteristics

Our cohort included 4 females and 15 males with a mean age of  $55 \pm 10$  years. The most common comorbidity was arterial hypertension that occurred in almost 85% of the sample. No one had diabetes mellitus nor heart failure and there was no smoker present in the cohort. All patients were receiving equal therapy with a cardio-selective long acting beta-blocker (metoprolol or bisoprolol), amiodarone and warfarin, at least 3 months prior to the ILR implantation until the first follow-up (3 months after the PVI). If the AF burden at the first follow-up was less than 1%, therapy with beta-blocker and amiodarone was terminated (Table 1).

The mean follow-up before the PVI was 69 days, the mean follow-up 3 months after the PVI was 94 days and the mean follow-up 9 months after the PVI was 285 days respectively. The mean relative AF burden decreased by 78% three months and by 35% nine months after the procedure (Table 2).

After the ILR implantation, only one patient developed persistent AF with AF burden 97%. Details about the individual AF burdens, history of persistent AF and linear lesions are in Table 3.

### Association between OS biomarkers and AF burden

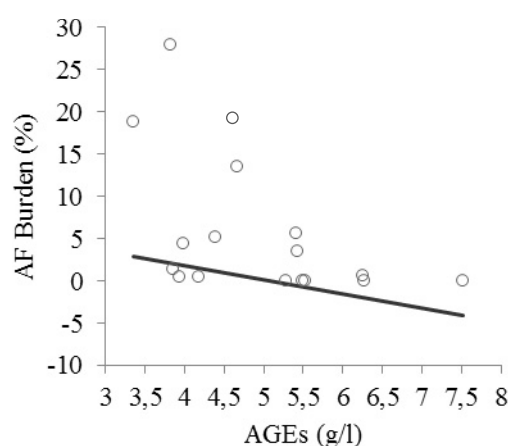
There was no statistically significant correlation between the OS biomarkers concentrations and the AF burden before the PVI.

However, we detected a statistically significant negative correlation between the AGEs concentration and AF burden ( $p = -0.63$ ;  $p < 0.01$ ,  $n=17$ ) and a non-significant negative correlation between the TBARS concentration and AF burden ( $p = -0.44$ ;  $p = 0.09$ ,  $n=17$ ) after the PVI (Table 4 and Figure 1).

**Tabuľka 2** Loop recorder charakteristika

Table 2 Loop recorder characteristics

| Premenná<br>(Variable)                               | Pred PVI (Baseline)<br>(Before PVI (Baseline)) | 3 mesiace po PVI<br>(3 months after PVI) | 9 mesiacov po PVI<br>(9 months after PVI) |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Trvanie follow-up (v dňoch) (Follow-up period, days) | $69 \pm 26$                                    | $94 \pm 9$                               | $285 \pm 25$                              |
| AF burden, priemer (mean) (%)                        | $28,6 \pm 27,0$                                | $5,4 \pm 8,1$                            | $5,3 \pm 5,9$                             |
| AF burden, minimálne (minimum) (%)                   | 2,1                                            | 0,0                                      | 0,0                                       |
| AF burden, maximálna (maximum) (%)                   | 97,1                                           | 27,9                                     | 17,3                                      |
| AF burden, relatívny pokles (relative reduction) (%) | N/A                                            | $78,11 \pm 303$                          | $35 \pm 163$                              |



**Obrázok 1** Bodový diagram koncových produktov pokročilej glykácie (AGEs) tri mesiace po PVI korelovaných na AF burden tri mesiace po izolácii pľúcnych žíl

**Figure 1** Scatter plot of Advanced glycation end-products concentration (AGEs) 3 months after the PVI correlated to atrial fibrillation (AF) burden 3 months after the pulmonary veins isolation

**Tabuľka 3** Individuálne charakteristiky atriálnej fibrilácie a údajov z loop rekordéra

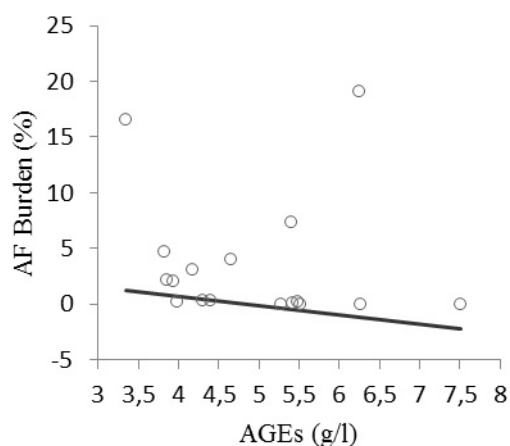
**Table 3** Individual characteristics of atrial fibrillation and loop recorder data

| Číslo pacienta<br>(Patient No.) | Anamnéza perzistentnej<br>FP<br>(History of persistent AF) | Lineárne lézie<br>(Linear lesions)               | Baseline<br>AF burden (%) | AF burden tri mesiace<br>po PVI (%)<br>(3 months after PVI, %) | AF burden deväť<br>mesiacov po PVI (%)<br>(9 months after PVI, %) |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 1                               | A                                                          | Roof line                                        | 65,8                      | 27,9                                                           | 12,73                                                             |
| 2                               | N                                                          | Nie (No)                                         | 2,3                       | 3,1                                                            | 16,48                                                             |
| 3                               | N                                                          | Nie (No)                                         | 2,1                       | 0,1                                                            | 0,03                                                              |
| 4                               | A                                                          | Roof line                                        | 10,3                      | 0,6                                                            | 13,41                                                             |
| 5                               | A                                                          | Roof line, Mitral isthmus, Cavotricuspid isthmus | 9,0                       | 3,5                                                            | 1,21                                                              |
| 6                               | N                                                          | Nie (No)                                         | 18,8                      | 1,4                                                            | 1,90                                                              |
| 7                               | A                                                          | Nie (No)                                         | 67,0                      | 18,0                                                           | 6,52                                                              |
| 8                               | A                                                          | Cavotricuspid isthmus                            | 30,8                      | 5,6                                                            | 6,73                                                              |
| 9                               | A                                                          | Cavotricuspid isthmus                            | 24,6                      | 4,4                                                            | 1,72                                                              |
| 10                              | A                                                          | Nie (No)                                         | 11,8                      | 0,1                                                            | 0,18                                                              |
| 11                              | A                                                          | Nie (No)                                         | 36,0                      | 13,5                                                           | 7,78                                                              |
| 12                              | A                                                          | Roof line, Mitral isthmus                        | 97,1                      | 0,5                                                            | 1,54                                                              |
| 13                              | N                                                          | Roof line, Mitral isthmus                        | 6,7                       | 0,1                                                            | 9,43                                                              |
| 14                              | A                                                          | Nie (No)                                         | 67,0                      | 18,9                                                           | 17,28                                                             |
| 15                              | A                                                          | Roof line, Mitral isthmus                        | 20,0                      | 0,0                                                            | 0,00                                                              |
| 16                              | N                                                          | Roof line, Mitral isthmus                        | 2,3                       | 0,4                                                            | 2,30                                                              |
| 17                              | N                                                          | Roof line, Mitral isthmus                        | 15,8                      | 5,2                                                            | 2,10                                                              |
| 18                              | A                                                          | Nie (No)                                         | 16,9                      | 0,0                                                            | 0,00                                                              |
| 19                              | A                                                          | Roof line, Mitral isthmus                        | 39,0                      | 0,0                                                            | 0,00                                                              |

**Tabuľka 4** Korelácia medzi biomarkermi oxidačného stresu a AF burden tri mesiace po PVI

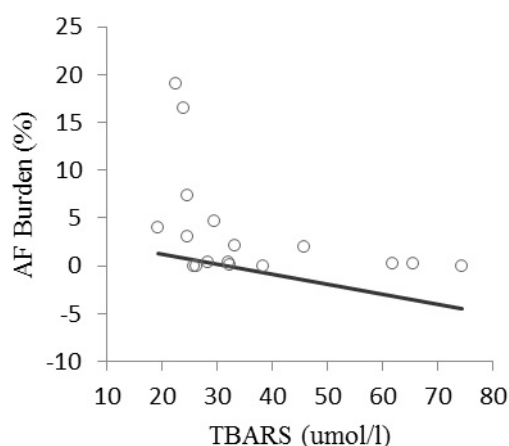
**Table 4** Oxidative stress biomarkers and AF burden correlations 3 months after the PVI

| Biomarker         | Pacienti (Patients)<br>(n) | Koeficient (Coefficient)<br>(ρ) | t (n-2) | p hodnota (p-value) |
|-------------------|----------------------------|---------------------------------|---------|---------------------|
| AF burden & AGEs  | 17                         | -0,63                           | -3,073  | 0,0083              |
| AF burden & FR    | 17                         | -0,14                           | -0,519  | 0,6122              |
| AF burden & TBARS | 17                         | -0,44                           | -1,817  | 0,0906              |
| AF burden & AOPP  | 17                         | -0,09                           | -0,294  | 0,7732              |



**Obrázok 2** Bodový diagram koncových produktov pokročilej glykácie (AGEs) tri mesiace po PVI korelovaných na AF burden deväť mesiacov po PVI

*Figure 2* Scatter plot of Advanced glycation end-products concentration (AGEs) 3 months after the pulmonary veins isolation (PVI) correlated to atrial fibrillation (AF) burden 9 months after the PVI



**Obrázok 3** Bodový diagram reaktívnych zlúčenín tiobarbiturovej kyseliny (TBARS) tri mesiace po izolácii pľúcnych žíl (PVI) korelovaných na AF burden deväť mesiacov po PVI

*Figure 3* Scatter plot of Thiobarbituric acid reacting substances concentration (TBARS) 3 months after the pulmonary veins isolation (PVI) correlated to atrial fibrillation (AF) burden 9 months after the PVI

Podobné výsledky sa pozorovali pri AF burden deväť mesiacov po PVI. Došlo k štatisticky významnej negatívnej korelácii medzi koncentráciou AGEs tri mesiace po PVI a AF burden deväť mesiacov po PVI ( $p = -0,5$ ;  $p = 0,04$ ,  $n = 17$ ) a taktiež medzi štatisticky významnou negatívnou koreláciou koncentrácie TBARS tri mesiace po PVI a AF burden deväť mesiacov po PVI ( $p = -0,61$ ,  $p = 0,01$ ,  $n = 17$ ) (tabuľka 5, obrázky 2 a 3).

#### Vzťah medzi ablačnými lineárnymi léziami a AF burden po PVI

Medián rozdielu AF burden medzi pacientmi s a bez ablačných lineárných lézií bol nevýznamne nižší o  $-1,65\%$  ( $p = 0,77$ ) a nevýznamne vyšší o  $0,8\%$  ( $p = 0,98$ ) po troch a deviatich mesiacoch od PVI.

#### Vzťah medzi históriou perzistujúcej FP a AF burden po PVI

Medián rozdielu AF burden medzi pacientmi s a bez histórie perzistujúcej FP bol nevýznamne vyšší o  $2,6\%$  ( $p =$

Similar results were observed with AF burden 9 months after the PVI. There was a statistically significant negative correlation between the AGEs concentration 3 months after the PVI and AF burden 9 months after the PVI ( $p = -0,5$ ;  $p = 0,04$ ,  $n=17$ ) and a statistically significant negative correlation between the TBARS concentration 3 months after the PVI and AF burden 9 months after the PVI ( $p = -0,61$ ;  $p = 0,01$ ,  $n=17$ ) (Table 5, Figure 2 and Figure 3).

#### Association between ablative linear lesions and AF burden after the PVI

The median difference of AF burden between patients with and without ablative linear lesions was non-significantly lower by  $-1.65\%$  ( $p = 0.77$ ) and non-significantly higher by  $0.8\%$  ( $p = 0.98$ ) 3 months and 9 months after the PVI, respectively.

#### Association between history of persistent AF and AF burden after the PVI

The median difference of AF burden between patients with and without history of persistent AF was non-significantly higher

**Tabuľka 5** Korelácia medzi biomarkermi oxidačného stresu tri mesiace po PVI a AF burden deväť mesiacov po PVI

*Table 5* Oxidative stress biomarkers 3 months after the PVI and AF burden 9 months after the PVI correlations

| Biomarker         | Pacienti (Patients) (n) | Koeficient (Coefficient) (p) | t (n-2) | p hodnota (p-value) |
|-------------------|-------------------------|------------------------------|---------|---------------------|
| AF burden & AGEs  | 17                      | -0,50                        | -1,867  | 0,0408              |
| AF burden & FR    | 17                      | -0,00                        | 2,278   | 0,9811              |
| AF burden & TBARS | 17                      | -0,61                        | -2,564  | 0,0108              |
| AF burden & AOPP  | 17                      | 0,04                         | 1,164   | 0,8686              |

0,51) a nevýznamne nižší o 2,3 % ( $p = 0,45$ ) po troch a deviatich mesiacoch od PVI.

### Vzťah medzi ablačnými lineárnymi léziami a biomarkermi OS

Existuje štatisticky významná korelácia medzi počtom lineárnych lézií a koncentráciou AOPP ( $p = 0,54$ ;  $p = 0,02$ ,  $n = 17$ ) a štatisticky nevýznamná korelácia medzi počtom lineárnych lézií a TBARS ( $p = 0,35$ ;  $p = 0,16$ ,  $n = 17$ ), AGEs ( $p = -0,02$ ,  $p = 0,94$ ,  $n = 17$ ) a FR koncentráciou ( $p = 0,28$ ;  $p = 0,27$ ,  $n = 17$ ) tri mesiace po PVI.

### Diskusia

Naša štúdia priniesla kontroverzný náhľad do mechanizmu AF po PVI. Vzhľadom na súčasný názor, považujúci oxidačný stres za patofyziologický faktor FP, sme očakávali pozitívnu koreláciu medzi biomarkermi OS a AF burden. Avšak výsledky našej štúdie preukázali opačný trend pri všetkých meraných biomarkeroch.

Navýše stanovenie AGEs a TBARS ukázalo štatisticky významnú negatívnu koreláciu s AF burden tri mesiace po PVI. AGEs a TBARS merané tri mesiace po PVI tiež štatisticky významne korelovali s AF burden deväť mesiacov po ukončení PVI, kedy už bola ukončená fibrotická remodelácia jaziev po ablácii. Okrem toho, postprocedurálna AF burden v našej štúdii nebola ovplyvnená prítomnosťou ablatívnych lineárnych lézií, ani históriou perzistujúcej FP, keďže sa nevyskytli žiadne štatisticky významné rozdiely v AF burden medzi skupinami s a bez lineárnych lézií, respektíve s alebo bez histórie perzistujúcich FP. Vzhľadom na to, že sa v súčasnosti pokladá postprocedurálny zápal a následný oxidačný stres za príčinu opätovného objavenia sa FP, výsledky našej štúdie navrhujú prehodnotenie tohto negatívneho vnímania zvýšeného oxidatívneho stresu po PVI.

Otázkou zostáva, prečo môže mať oxidačný stres priaznivý vplyv na AF burden po PVI? Jeden predpoklad je, že zvýšený oxidačný stres vyjadrený biomarkermi OS je zodpovedný za zvýšenú produkciu fibrotického tkaniva v oblastiach, kde bolo aplikované rádiokvencné poškodenie. Zrejme existuje pozitívna korelácia medzi intenzitou odpovede na oxidačný stres a intenzitou fibrotickej reparácie tkaniva. Následkom vyššej produkcie fibrotického tkaniva v oblasti ústí pulmonálnych žíl je lepšia elektrická izolácia po rádiokvencnej ablácii. Teda AF burden sa znižuje, keďže elektrické impulzy z „micro-reentry“ fokusov, vychádzajúce z pulmonálnych žíl, sa nemôžu šíriť na predsieň. Okrem toho teória založená na základe našich zistení by mohla vysvetliť zlyhanie posledných randomizovaných štúdií, ktoré využívajú imunosupresívu po PVI na zabránenie opakovaného výskytu FP. V jednej štúdii sa rozdiel v opakovaní FP nenašiel, pri

by 2.6% ( $p = 0,51$ ) a non-significantly lower by -2.3% ( $p = 0,45$ ) 3 months and 9 months after the PVI, respectively.

### Association between ablative linear lesions and OS biomarkers

There was a statistically significant correlation between the number of linear lesions and AOPP concentration ( $p = 0,54$ ;  $p = 0,02$ ,  $n = 17$ ) and a statistically non-significant correlation between the number of linear lesions and TBARS ( $p = 0,35$ ;  $p = 0,16$ ,  $n = 17$ ), AGEs ( $p = -0,02$ ;  $p = 0,94$ ,  $n = 17$ ) and FR ( $p = 0,28$ ;  $p = 0,27$ ,  $n = 17$ ) concentrations 3 months after the PVI, respectively.

### Discussion

Our study brought a controversial insight into the mechanism of AF after the PVI. Due to the current opinion regarding the oxidative stress as a pathophysiologic factor of AF, a positive correlation of OS biomarkers and AF burden was expected. However, the results of our study showed a consistent opposite trend for all biomarkers measured. Additionally, the measurement of AGEs revealed a statistically significant negative correlation with AF burden 3 months after the PVI. The AGEs and TBARS measured 3 months after the PVI also statistically significantly correlated with AF burden 9 months after the PVI when the reverse remodeling of the ablative scars was already accomplished. Furthermore, the post-procedural AF burden in our study was not influenced by the presence of ablative linear lesions or history of persistent AF as there were no statistically significant differences in AF burden between groups with and without linear lesions or history of persistent AF. Since the post procedural inflammation and subsequent oxidative stress is currently believed to be a reason of early AF recurrence, the findings of our study suggest reevaluating this negative perception of increased oxidative stress after PVI.

The question remains as to why the oxidative stress might have a beneficial impact in terms of AF burden reduction after the PVI. One assumption is that the increased oxidative stress expressed by the OS biomarkers is responsible for enhancement of the fibrotic tissue repair in the areas where radiofrequency damage was delivered. There might be a positive correlation between the intensity of oxidative stress response and the intensity of fibrotic repair. The rationale behind the benefits of higher fibrotic production in the pulmonary veins ostia after radiofrequency ablation is the better electrical isolation. Consequently, AF burden is reduced as the electrical impulses from micro-reentries originating in the pulmonary veins cannot spread to the atria. In addition, this theory based on our findings could explain the failure of recent randomized controlled trials where immunosuppressive treatment after the PVI was used to prevent the AF recurrence. In one study, the difference in the AF recurrence was not found when comparing

porovnaní imunosupresív s placebom. V ďalšej štúdii nebolo používanie imunosupresív spojené so zníženým výskytom FP, a dokonca viedlo k väčším rádiofrekvenčným požiadavkám na PVI a k vyššej prevalencii latentnej vodivosti pľúcnych žíl (11, 12).

Naše predpoklady podporujú aj nedávne štúdie na zvieratách, skúmajúce os AGEs-RAGE. Tieto štúdie priniesli dôkazy o tom, že AGEs spôsobujú predsieňovú fibrózu u diabetických potkanov pomocou „up-regulácie“ spojovacieho tkanivového rastového faktora (CTGF) a matrixovej metaloproteinázy (MMPs) (13 – 16). Tieto výsledky poukázali na to, že koncentrácie AGEs môžu mať príčinnú súvislosť s predsieňovou fibrózou, ktorá sa môže zvýšiť najmä po PVI počas hojenia ablačných lézií. Okrem toho toto môže vysvetliť, prečo koncentrácie AGEs po, ale nie pred PVI, negatívne korelujú s AF burden.

Vynára sa ďalšia otázka, ktorá súvisí s rozdielmi v individuálnej odpovedi na OS. Predpokladali sme, že rozsah PVI by mohol byť spojený s veľkosťou zápalu a následným OS. Avšak v našej štúdii sme nenašli rozdiel medzi postprocedurálnym AF burden u pacientov s a bez ablácie lineárnych lézií. Navyše iba AOPP štatisticky významne korelovalo s počtom lineárnych lézií, ale nie s TBARS a AGEs, ktoré boli spojené s postprocedurálnym AF burden. Táto teória však nie je podporená výsledkami našej štúdie a mechanizmus individuálnej odpovede na OS tak zostáva neznámy.

Nami prezentovaná štúdia priniesla aj rôzne klinické dôsledky. Okrem vysvetlenia, prečo by sme sa mali vyhnúť imunosupresívnej terapii po PVI, naša štúdia naznačuje aj iný terapeutický smer, ktorý by mohol smerovať k stimulácii oxidačného stresu. Ďalším dôležitým a klinicky relevantným prínosom je sľubná možnosť predikcie AF burden z pozá-krokovkej koncentrácie AGEs a TBARS. Mohlo by to byť osobitne dôležité pri kontrolách srdcového rytmu a prognóze pacientov podstupujúcich PVI. Avšak na to, aby sa vytvoril spoľahlivý prediktívny model a na potvrdenie vyššie uvedenej patofyziologického náhľadu, sú potrebné väčšie štúdie a ďalší výskum.

## Obmedzenia

Napriek tomu, že plazmatické koncentrácie biomarkerov OS sa považujú za pomerne stabilné, jestvuje mnoho vonkajších a vnútorných faktorov, ktoré by mohli mať vplyv na ich hladinu. Nie je isté, či namerané koncentrácie odrážajú stabilnú aktivitu oxidačného stresu u pacientov, alebo či to bol len prejav aktuálnej zmeny ovplyvnenej súčasným príjmom antioxidantov, pasívnym fajčením alebo inou expozíciou voľných radikálov.

Ďalším obmedzením tejto štúdie je heterogenita pacientov, keďže niektorí mali anamnézu perzistujúcej FP, kvôli čomu bola technika rádiofrekvenčnej ablácie nejednotná. Na druhej strane, postprocedurálny AF burden nemal žiaden vplyv na štatistickú analýzu a iba u jedného pacienta sa počas sledova-

immunosuppressant to the placebo arm. In the other study, the use of immunosuppressant was again not associated with the reduction of AF recurrence, but resulted in greater radio-frequency requirements for PVI and a higher prevalence of dormant pulmonary veins conduction (11, 12).

Our assumptions are further supported by recent animal studies examining AGEs-RAGE axis. These studies have brought evidence that AGEs cause atrial fibrosis in diabetic rats by up-regulation of connective tissue growth factor (CTGF) and matrix metalloproteinases (MMPs) (13 – 16). These results indicated that AGEs concentrations could be causally linked with the atrial fibrosis, which might be enhanced especially after PVI during the fibrotic repair. Moreover, this may explain why only the post PVI, but not the pre PVI concentration of AGEs negatively correlated with the AF burden.

Another question emerges, related to the differences in the individual OS response. We hypothesized that the extent of PVI could be linked with the extent of inflammation and subsequent OS. However, in our study there was no difference between post-procedural AF burden in the patients with and without ablative linear lesions. Furthermore, only AOPP statistically significantly correlated with the number of linear lesions, but not the TBARS and AGEs which were shown to be associated with the post-procedural AF burden. So this theory was not supported by the results of our study and the mechanism of individual OS response remains unknown.

Our study also brought various clinical implications. Except for an explanation as to why immunosuppressive therapy after the PVI should be avoided, it suggests a different therapeutic direction that might aim for oxidative stress stimulation. Another important and clinically relevant contribution is the promising possibility of AF burden prediction from the post-procedural concentrations of AGEs and TBARS. This could be of paramount importance in the heart rhythm follow-up and prognosis assessment of the patients undergoing PVI. However, to create a reliable predictive model and to confirm the above mentioned pathophysiological insights, larger studies and further research are required.

## Limitations

In spite of the fact that the plasmatic concentrations of OS biomarkers are considered to be quite stable, there are a lot of external and internal factors that might influence their levels. It is not certain whether the measured concentrations reflected a stable oxidative stress activity in the patients or whether this was just a reflection of actual variation influenced by current antioxidants intake, passive smoking or other free radical exposure. Another limitation of this study is the heterogeneity of the patients as some had history of persistent AF, and the catheter ablation technique was not uniform. On the other hand, in statistical analysis it had no impact on the post procedural AF burden and only one patient developed persistent AF during the follow-up. Finally,

ného obdobia vyvinula perzistujúca FP. Napokon, aj napriek tomu, že získané výsledky boli významné, počet pacientov v našej štúdii bol relatívne nízky.

## Záver

V tejto štúdii sme analyzovali vzťah medzi biomarkermi OS a AF burden pred a po PVI. Naše výsledky ukazujú na negatívnu koreláciu koncentrácie AGEs a TBARS s AF burden po PVI. Tieto zistenia môžu prispieť k pochopeniu etiológie FP po PVI. Napriek tomu by mali byť klinické závery zhodnotené vo väčších a dlhodobějších štúdiách.

## Podakovanie

Tento výskum bol podporovaný nezávislým vzdelávacím grantom Slovenskej kardiologickej spoločnosti: VVS/1-900/90-12219-2, a z Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky VEGA 2/0105/15.

## Literatúra/References/Informácie/Informations

- Guo Y, Lip GY, Apostolakis S. Inflammation in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Dec 4;60(22):2263-2270. doi: 10.1016/j.jacc.2012.04.063. Review. PubMed PMID: 23194937.
- Vílchez JA, Roldán V, Hernández-Romero D, Valdés M, Lip GY, Marín F. Biomarkers in atrial fibrillation: an overview. *Int J Clin Pract*. 2014 Apr;68(4):434-443. doi: 10.1111/ijcp.12304. Epub 2013 Dec 22. PubMed PMID: 24372915.
- Korantzopoulos P, Kolettis TM, Galaris D, Goudevenos JA. The role of oxidative stress in the pathogenesis and perpetuation of atrial fibrillation. *Int J Cardiol*. 2007 Feb 7;115(2):135-143. Epub 2006 Jun 9. Review. PubMed PMID: 16764958.
- Mihm MJ, Yu F, Carnes CA, Reiser PJ, McCarthy PM, Van Wagoner DR, Bauer JA. Impaired myofibrillar energetics and oxidative injury during human atrial fibrillation. *Circulation*. 2001 Jul 10;104(2):174-180. PubMed PMID: 11447082.
- Kim YH, Lim DS, Lee JH, Shim WJ, Ro YM, Park GH, Becker KG, Cho-Chung YS, Kim MK. Gene expression profiling of oxidative stress on atrial fibrillation in humans. *Exp Mol Med*. 2003 Oct 31;35(5):336-349. PubMed PMID: 14646586.
- Lenaerts I, Driesen RB, Hermida N, Holemans P, Heidebüchel H, Janssens S, Balligand JL, Sipido KR, Willems R. Role of nitric oxide and oxidative stress in a sheep model of persistent atrial fibrillation. *Europace*. 2013 May;15(5):754-760. doi: 10.1093/europace/eut012. Epub 2013 Feb 17. Erratum in: *Europace*. 2013 Nov;15(11):1684. Blanco, Nerea Hermida [corrected to Hermida, Nerea]. PubMed PMID: 23419660.
- European Heart Rhythm Association; European Association for Cardio-Thoracic Surgery, Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY, Schotten U, Savelieva I, Ernst S, Van Gelder IC, Al-Attar N, Hindricks G, Prendergast B, Heidbuchel H, Alfieri O, Angelini A, Atar D, Colonna P, De Caterina R, De Sutter J, Goette A, Gorennek B, Heldal M, Hohloser SH, Kolh P, Le Heuzey JY, Ponikowski P, Rutten FH. Guidelines for the management of atrial fibrillation:

although the obtained results were statistically significant, the number of patients in our study was relatively small.

## Conclusion

In the present study, we analyzed the relation between the OS biomarkers and AF burden before and after the PVI. Our results showed a negative correlation of AGEs and TBARS concentration with AF burden after the PVI. These findings might contribute to understanding the etiology of AF after the PVI. Nevertheless, the clinical implications should be evaluated in larger and long-lasting prospective studies

## Acknowledgements

This research was supported by an independent educational grant of the Slovak Society of Cardiology: VVS/1-900/90-12219-2; and from Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic VEGA 2/0105/15.

- The Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2010 Oct;31(19):2369-2429. doi: 10.1093/eurheartj/ehq278. Epub 2010 Aug 29. Erratum in: *Eur Heart J*. 2011 May;32(9):1172. PubMed PMID: 20802247.
- Calkins H, Kuck KH, Cappato R, Brugada J, Camm AJ, Chen SA, Crijns HJ, Damiano RJ Jr, Davies DW, DiMarco J, Edgerton J, Ellenbogen K, Ezekowitz MD, Haines DE, Haissaguerre M, Hindricks G, Iesaka Y, Jackman W, Jalife J, Jais P, Kalman J, Keane D, Kim YH, Kirchhof P, Klein G, Kottkamp H, Kumagai K, Lindsay BD, Mansour M, Marchlinski FE, McCarthy PM, Mont JL, Morady F, Nademanee K, Nakagawa H, Natale A, Nattel S, Packer DL, Pappone C, Prystowsky E, Raviele A, Reddy V, Ruskin JN, Shemin RJ, Tsao HM, Wilber D; Heart Rhythm Society Task Force on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation. 2012 HRS/EHRA/ECAS expert consensus statement on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation: recommendations for patient selection, procedural techniques, patient management and follow-up, definitions, endpoints, and research trial design: a report of the Heart Rhythm Society (HRS) Task Force on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation. Developed in partnership with the European Heart Rhythm Association (EHRA), a registered branch of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Cardiac Arrhythmia Society (ECAS); and in collaboration with the American College of Cardiology (ACC), American Heart Association (AHA), the Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS), and the Society of Thoracic Surgeons (STS). Endorsed by the governing bodies of the American College of Cardiology Foundation, the American Heart Association, the European Cardiac Arrhythmia Society, the European Heart Rhythm Association, the Society of Thoracic Surgeons, the Asia Pacific Heart Rhythm Society, and

- the Heart Rhythm Society. *Heart Rhythm*. 2012 Apr;9(4):632-696.e21. doi: 10.1016/j.hrthm.2011.12.016. Epub 2012 Mar 1. PubMed PMID: 22386883.
9. Calkins H, Reynolds MR, Spector P, Sondhi M, Xu Y, Martin A, Williams CJ, Sledge I. Treatment of atrial fibrillation with antiarrhythmic drugs or radiofrequency ablation: two systematic literature reviews and meta-analyses. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2009 Aug;2(4):349-361. doi: 10.1161/CIRCEP.108.824789. Epub 2009 Jun 2. Review. PubMed PMID: 19808490.
10. McCabe JM, Smith LM, Tseng ZH, Badhwar N, Lee BK, Lee RJ, Scheinman MM, Olgin JE, Marcus GM. Protracted CRP elevation after atrial fibrillation ablation. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2008 Sep;31(9):1146-1151. doi: 10.1111/j.1540-8159.2008.01155.x. PubMed PMID: 18834466; PubMed Central PMCID: PMC2596767.
11. Andrade JG, Khairy P, Nattel S, Vanella A, Rivard L, Guerra PG, Dubuc M, Dyrda K, Thibault B, Talajic M, Mondesert B, Roy D, Macle L. Corticosteroid use during pulmonary vein isolation is associated with a higher prevalence of dormant pulmonary vein conduction. *Heart Rhythm*. 2013 Oct;10(10):1569-1575. doi: 10.1016/j.hrthm.2013.07.037. Epub 2013 Jul 26. PubMed PMID: 23892341.
12. Won H, Kim JY, Shim J, Uhm JS, Pak HN, Lee MH, Joung B. Effect of a single bolus injection of low-dose hydrocortisone for prevention of atrial fibrillation recurrence after radiofrequency catheter ablation. *Circ J*. 2013;77(1):53-59. Epub 2012 Sep 22. PubMed PMID: 23006726.
13. Kato T, Yamashita T, Sekiguchi A, Tsuneda T, Sagara K, Takamura M, Kaneko S, Aizawa T, Fu LT. AGEs-RAGE system mediates atrial structural remodeling in the diabetic rat. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2008 Apr;19(4):415-420. doi: 10.1111/j.1540-8167.2007.01037.x. Epub 2008 Feb 21. PubMed PMID: 18298515.
14. Candido R, Forbes JM, Thomas MC, Thallas V, Dean RG, Burns WC, Tikellis C, Ritchie RH, Twigg SM, Cooper ME, Burrell LM. A breaker of advanced glycation end products attenuates diabetes-induced myocardial structural changes. *Circ Res*. 2003 Apr 18;92(7):785-792. Epub 2003 Mar 6. PubMed PMID: 12623881.
15. Mukherjee R, Herron AR, Lowry AS, Stroud RE, Stroud MR, Wharton JM, Ikonomidis JS, Crumbley AJ 3rd, Spinale FG, Gold MR. Selective induction of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in atrial and ventricular myocardium in patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol*. 2006 Feb 15;97(4):532-537. Epub 2006 Jan 4. PubMed PMID: 16461051.
16. Hofmann MA, Drury S, Fu C, Qu W, Taguchi A, Lu Y, Avila C, Kambham N, Bierhaus A, Nawroth P, Neurath MF, Slattey T, Beach D, McClary J, Nagashima M, Morser J, Stern D, Schmidt AM. RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. *Cell*. 1999 Jun 25;97(7):889-901. PubMed PMID: 10399917.