

# POVEZANOST PROFILA N-GLIKANA IMUNOGLOBULINA G S FIBROZOM LIJEVOG ATRIIJA I REKURENCIJOM FIBRILACIJE ATRIIJA NAKON IZOLACIJE PLUĆNIH VENA

---

Szavits Nossan, Janko

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:264613>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**Janko Szavits Nossan**

**POVEZANOST PROFILA N-GLIKANA IMUNOGLOBULINA  
G S FIBROZOM LIJEVOG ATRIIJA I REKURENCIJOM  
FIBRILACIJE ATRIIJA NAKON IZOLACIJE PLUĆNIH VENA**

**Doktorska disertacija**

**Osijek, 2022.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**Janko Szavits Nossan**

**POVEZANOST PROFILA N-GLIKANA IMUNOGLOBULINA  
G S FIBROZOM LIJEVOG ATRIIJA I REKURENCIJOM  
FIBRILACIJE ATRIIJA NAKON IZOLACIJE PLUĆNIH VENA**

**Doktorska disertacija**

**Osijek, 2022.**

Mentor: prof. dr. sc. Jure Mirat, dr. med.

Komentor: prof. dr. sc. Robert Bernat, dr. med.

Disertacija ima 87 stranica.

*Zahvaljujem svojoj obitelji, posebno supruzi Morani, na podršci i strpljenju.*

*Zahvaljujem svom mentoru, prof. dr. sc. Juri Miratu, i komentoru, prof. dr. sc. Robertu Bernatu, na podršci i savjetima tijekom cijelog procesa pisanja ove disertacije.*

*Ovo istraživanje potpomognuto je projektom “GLYCARD: Glikozilacija u kardiovaskularnim bolestima” (UIP – 2019 – 04 - 5692), koji je financirala Hrvatska zaklada za znanost.*

*Zahvaljujem koordinatoru projekta dr. sc. Ivanu Gudelju i ravnatelju Laboratorija za istraživanje glikoznanosti Genos, prof. dr. sc. Gordanu Laucu, na ključnoj potpori i analizi.*

*Zahvaljujem prof. dr. sc. Mihajlu Šesti, ravnatelju Klinike za kardiovaskularne bolesti Magdalena u kojoj je studija provedena.*

*Također bih želio izraziti veliku zahvalnost dragom prijatelju dr. Maroju Soriću, docentu na Kineziološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu na savjetima tijekom ovog istraživanja. Posebno sam zahvalan na pomoći koju mi je pružio prijatelj i kolega Nikola Jutriša iz elektrofiziološkog laboratorija klinike Magdalena.*

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Fibrilacija atrija – prevalencija, klasifikacija i patofiziologija.....	1
1.2. Izolacija plućnih vena.....	2
1.3. Fibroza atrija .....	3
1.3.1. Uloga u patofiziologiji fibrilacije atrija.....	3
1.3.2. Rekurencija fibrilacije atrija nakon izolacije plućnih vena .....	3
1.3.3. Strategija ablacije prilagođena supstratu .....	5
1.3.4. Uloga kronične upale u patogenezi atrijske fibroze .....	6
1.4. Glikani.....	10
1.4.1. IgG glikozilacija kao modulator upale .....	12
1.4.2. IgG glikozilacija u kardiovaskularnim bolestima .....	13
<b>2. HIPOTEZA</b> .....	15
<b>3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	16
<b>4. ISPITANICI I METODE</b> .....	17
4.1. Ustroj istraživanja .....	17
4.2. Ispitanici .....	18
4.2.1. Uključni kriteriji .....	18
4.2.2. Isključni kriteriji .....	18
4.2.3. Plan i shema istraživanja .....	18
4.3. Metode.....	20
4.3.1. Klinički parametri .....	20
4.3.2. Procjena fibroze lijevog atrija .....	20
4.3.3. Izolacija plućnih vena.....	21
4.3.4. Analiza IgG N-glikoma.....	22
4.3.5. Praćenje bolesnika .....	23
4.4. Analiza podataka .....	23
4.4.1. Statističke metode .....	23
4.4.2. Procjena veličine uzorka .....	24
<b>5. REZULTATI</b> .....	25
5.1. Karakteristike bolesnika.....	25
5.2. Fibroza lijevog atrija .....	27

5.3. Razlike u raspodjeli IgG N-glikana i N-glikana u plazmi između bolesnika s i bez recidiva FA nakon izolacije plućnih vena .....	27
5.4. Razlike u raspodjeli IgG N-glikana i N-glikana u plazmi između bolesnika s i bez fibroze lijevog atrija.....	39
5.5. Povezanost fibroze lijevog atrija i indeksa tjelesne mase .....	48
6. <b>RASPRAVA</b> .....	52
7. <b>ZAKLJUČAK</b> .....	64
8. <b>SAŽETAK</b> .....	65
9. <b>SUMMARY</b> .....	67
10. <b>REFERENCE</b> .....	69
11. <b>ŽIVOTOPIS</b> .....	80

## POPIS KRATICA

- ACT – aktivirano vrijeme zgrušavanja (prema eng. *activated clotting time*)
- AF – atrijska fibrilacija
- BIFA – „box“ izolacija fibrotične areje
- BMI – indeks tjelesne mase (prema eng. *body mass indeks*)
- BNP – B-tip natriuretskog peptida
- CRP – C-reaktivni protein
- CT – kompjutorizirana tomografija (prema eng. *computed tomography*)
- EAVM – elektroanatomska voltažna mapa (prema eng. *electro-anatomical voltage map*)
- EF – ejekcijska frakcija
- EKG – elektrokardiogram
- Fab – fragment vezajućeg antigena (prema eng. *fragmented binding part*)
- FACK – fibrotična atrijska kardiomiopatija
- Fc – kristalizirajući fragment (prema eng. *fragment crystallizable*)
- Fuc – fukoza (prema eng. *fucose*)
- Gal – galaktoza (prema eng. *galactose*)
- Gal-3 – galektin-3
- GDF-15 – diferencijacijski faktor rasta 15 (prema eng. *growth differentiation factor 15*)
- GlcNAc – N-acetilglukozamin
- HDL – lipoprotein visoke gustoće (prema eng. *high-density lipoprotein*)
- HFpEF – srčano zatajenje s očuvanom ejekcijskom frakcijom (prema eng. *heart failure with preserved ejection fraction*)
- IgG – imunoglobulin G
- IL-6 – interleukin-6
- LA – lijevi atrij
- LV – lijevi ventrikul
- MMP-9 – metaloproteinaza-9
- MR – magnetska rezonancija
- NOAK – novi oralni antikoagulans
- NVZ – nisko-voltažna zona
- PPI – inhibitor protonске pumpe (prema eng. *proton pump inhibitor*)
- RF – radiofrekventna
- SA – sialična kiselina (prema eng. *sialic acid*)



TGF $\beta$  – transformirajući faktor rasta beta (prema eng. *transforming growth factor  $\beta$* )

TNF $\alpha$  – tumor nekrotični faktor  $\alpha$  (prema eng. *transforming growth factor  $\alpha$* )

TSH – tiroidni stimulirajući hormon

UPLC – ultra-performance tekuća kromatografija (prema eng. *ultra-performrmance liquid chromatography*)

VKA – vitamin K antagonist

3D – trodimenzionalna

## POPIS SLIKA

Slika 1.1. Primjeri elektro-anatomskih voltažnih mapa lijevog atrija kod četiri bolesnika s različitim opsegom fibroze.....	6
Slika 1.2. Primjer strukture IgG glikana i različitih bolesti kao modificirajućih čimbenika ...	11
Slika 1.3. Primjeri tri različite vrste N-glikana s istom jezgrom.....	12
Slika 4.1. Shema istraživanja .....	19
Slika 4.2. Procjena veličine uzorka: ANCOVA.....	24
Slika 5.1. Kromatogrami iz IgG N-glikana razdvojeni su u 24 vrha.....	28
Slika 5.2. Kromatogrami iz plazmatskih N-glikana razdvojeni su u 39 vrhova. ....	29
Slika 5.3. Okvirni grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova IgG N-glikoma (GP1 - GP16) u bolesnika s recidivom AF (skupina 0) i bez recidiva AF (skupina 1).....	30
Slika 5.4. Okvirni grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova IgG N-glikoma (GP17 - GP24 i izvedene osobine) u bolesnika s recidivom AF (skupina 0) i bez recidiva AF (skupina 1).....	31
Slika 5.5. Okvirni grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (GP1 - GP16) ubolesnika s recidivom AF (skupina 0) i bez recidiva AF (skupina 1).....	33
Slika 5.6. Okvirni grafikoni koji pokazuju raspodjelu vrhova N-glikoma u plazmi (GP17 - GP28) ubolesnika s recidivom AF (skupina 0) i bez recidiva AF (skupina 1).....	34
Slika 5.7. Okvirni grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (GP29 - 39 i izvedene osobine LB, HB, S0, S1 i S2) u bolesnika s (skupina 0) i bez (skupina 1) rekurencije AF. ....	35
Slika 5.8. Okvirni grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (izvedene osobine S3,S4, G0_p, G1_p, G2_p, G3, G4, HM, B_p, CF i AF) u bolesnika s (skupina 0) i bez (skupina 1) rekurencije AF. ....	36
Slika 5.9. Okvirni grafikoni koji pokazuju distribuciju vrhova IgG N-glikoma (GP1 - 16) u bolesnika s (skupina 0) i bez (skupina 1) LA fibroze.....	39
Slika 5.10. Okvirni grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova IgG N-glikoma (GP17 - 24 i izvedene osobine) u bolesnika s (skupina 0) i bez (skupina 1) fibroze LA.....	40
Slika 5.11. Okvirni grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (GP1 - 16) u bolesnika s (skupina 0) i bez (skupina 1) fibroze LA .....	42
Slika 5.12. Okvirni grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi	

(GP17 - 28) u bolesnika s (skupina 0) i bez (skupina 1) fibroze LA .....	43
Slika 5.13. Okvirni grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (GP29 - 39 i izvedene osobine LB, HB, S0, S1, S2) u bolesnika s (skupina 0) i bez (skupina 1) fibroze LA .....	44
Slika 5.14. Okvirni grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (izvedene osobine S3, S4, G0_p, G1_p, G2_p, G3, G4, HM, B_p, CF i AF) u bolesnika s (skupina 0) i bez (skupina 1) fibroze LA.....	45
Slika 5.15. Okvirni grafikon koji prikazuje raspodjelu BMI u dvije skupine pacijenata stratificirane prema prisutnosti značajne fibroze LA. ....	48
Slika 5.16. Okvirni grafikon koji prikazuje distribuciju BMI u četiri skupine bolesnika s Različitim udjelom fibroze LA.....	49
Slika 5.17. Okvirni grafikon koji prikazuje raspodjelu BMI u četiri skupine pacijenata stratificirane prema broju područja fibroze LA .....	50

## POPIS TABLICA

Tablica 5.1. Karakteristike bolesnika stratificirane prema prisutnosti značajne fibroze LA. ...	25
Tablica 5.2. Učinci, P-vrijednosti i prilagođene P-vrijednosti (fdr - Benjamini/Hochberg) za razlike u IgG N-glikanima između pacijenata s i bez rekurencije FA nakon izolacije plućnih vena.....	32
Tablica 5.3. Učinci, P-vrijednosti i prilagođene P-vrijednosti (fdr - Benjamini/Hochberg) za razlike u glikanima u plazmi između pacijenata s i bez ponavljanja FA nakon izolacije plućnih vena.....	37
Tablica 5.4. Učinci, P-vrijednosti i prilagođene P-vrijednosti (fdr - Benjamini/Hochberg) za razlike u IgG N-glikanima između bolesnika s i bez fibroze LA. ....	41
Tablica 5.5. Učinci, P-vrijednosti i prilagođene P-vrijednosti (fdr - Benjamini/Hochberg) za razlike u glikanima u plazmi između pacijenata s i bez fibroze LA. ....	46

## 1. UVOD

### 1.1. Fibrilacija atrijska – prevalencija, klasifikacija i patofiziologija

Prevalencija fibrilacije atrijske (FA) u općoj populaciji je 2,3 - 3,4 % (1). FA povećava rizik od kardiovaskularne smrtnosti, cerebrovaskularnih tromboembolijskih incidenata i zatajenja srca te narušava kvalitetu života (1). Trenutačna klasifikacija FA temelji se na etiologiji i vremenskom obrascu. Prevalencija FA veća je u bolesnika s drugim srčanim bolestima kao što su koronarna bolest i kardiomiopatija. Tamo gdje ne postoji prepoznatljiva strukturna bolest srca, FA je klasificirana kao "usamljena". Klasifikacija na temelju vremenskog obrasca razlikuje samoterminirajuću paroksizmalnu fibrilaciju atrijsku od perzistentne atrijske fibrilacije koja zahtijeva kardioverziju s antiaritmikima ili elektrokardioverziju. Perzistentna fibrilacija atrijska koja traje dulje od jedne godine smatra se trajnom. Obje se klasifikacije temelje na patofiziologiji i prognozi fibrilacije atrijske. Liječenje paroksizmalne i "usamljene" fibrilacije atrijske korištenjem lijekova i invazivnih postupaka ima veću stopu uspješnosti od liječenja trajne atrijske fibrilacije. Perzistentna fibrilacija atrijska, s druge strane, ima veću stopu recidiva, osobito tamo gdje je prisutna temeljna strukturna bolest srca. Inicirajući okidači, tj. električne aktivacije iz žarišta plućnih vena, igraju glavnu ulogu u patogenezi FA zajedno s patološkim supstratom miokarda lijeve atrijske koji je važan u održavanju FA.

Žarišta brzih električnih izbijanja nalaze se uglavnom u mišićnim rukavima plućnih vena (2). Ova dobro utvrđena patogeneza inicijacije fibrilacije atrijske bila je razlog za razvoj najučinkovitijeg invazivnog liječenja – izolacije plućnih vena (PVI). Cirkumferentna ablacija širokog područja (eng. "wide area circumferential ablation" - WACA) oko ušća plućnih vena s radiofrekventnom energijom ili zamrzavanje istog područja krio-balonom rezultira njihovom električnom izolacijom i eliminacijom okidača FA. Kao rezultat poboljšanja ovih tehnologija tijekom posljednja dva desetljeća, većina pacijenata (70 – 90 %) s "usamljenom" fibrilacijom atrijskom može se dugoročno osloboditi ove vrste aritmije. Međutim, recidivi FA koji se ipak javljaju u značajnom dijelu ovih bolesnika, čak i nakon ponovljenog zahvata, ne mogu se objasniti samo ponovnim povezivanjem plućnih vena (3).

## 1.2. Izolacija plućnih vena

Izolacija plućnih vena je invazivno liječenje FA. Električna izolacija plućnih vena može se postići tijekom kirurškog zahvata na srcu ili perkutano radiofrekventnom (RF) ablacijom ili krioablacijom. Sva tri modaliteta dovode do stanične nekroze što rezultira stvaranjem ožiljka oko plućnih vena. Ožiljak je električni izolator koji sprječava provođenje električnog signala od žarišta plućne vene do lijevog atrija i inicijaciju FA. RF ablacija je najčešći modalitet izolacije plućnih vena, a slijedi krioablacija. Izolacija plućnih vena tijekom kirurškog zahvata ograničena je na pacijente s indikacijom za operaciju na otvorenom srcu.

RF ablacija se izvodi tehnikom „točka po točka“. Nakon perkutane transeptalne punkcije ablacijski kateter se kroz dugu uvodnicu umetne u lijevi atrij. Trodimenzionalni (3D) položaj RF katetera u magnetskom polju se kontinuirano bilježi dok se kateter pomiče unutar LA stvarajući tako anatomski model. Ovaj postupak naziva se brzo anatomske mapiranje. 3D model lijevog atrija omogućuje preciznu ablaciju od točke do točke oko plućnih vena. Nakon što se osigura pravilno postavljanje katetera s obzirom na udaljenost venskog ušća i na kontakt sa stijenkom LA, primjenjuje se RF energija što rezultira zagrijavanjem tkiva i staničnom nekrozom.

Stanična nekroza bi u idealnom slučaju trebala biti transmuralna, a linija ablacije ne bi trebala imati praznine ne-nekrotičnog tkiva. Ne-transmuralne točke ablacije ostavljaju praznine u električnoj izolaciji i rezultiraju električnom rekonekcijom plućnih vena, što je glavni uzrok rekurencije FA u bolesnika s paroksizmalnom FA bez strukturne bolesti srca ili drugih komorbiditeta kao što su opstruktivna apneja u snu, pretilost i dijabetes. Izolacija plućnih vena s RF ablacijom dokazano je siguran i učinkovit način liječenja u bolesnika s paroksizmalnom FA bez strukturne bolesti srca (4, 5). Godine 2012. Nielsen i sur. uspoređivali su opterećenje fibrilacijom atrija u 294 bolesnika liječenih izolacijom plućnih vena ili antiaritmikima (6). Opterećenje FA definirano je kao postotak vremena u kojem je pacijent u FA mjeren pomoću pet 7-dnevnih holter EKG-a tijekom dvogodišnjeg praćenja. Utvrđeno je da je opterećenje FA slično u obje skupine bolesnika nakon 3, 6, 12 i 18 mjeseci. Na kraju razdoblja praćenja, utvrđeno je da je opterećenje FA značajno niže u skupini bolesnika kod kojih je učinjena izolacija plućnih vena u usporedbi s drugom skupinom, uz veći udio bolesnika bez recidiva FA.

### **1.3. Fibroza atrijsa**

#### **1.3.1. Uloga u patofiziologiji fibrilacije atrijsa**

Abnormalni supstrat tkiva LA odgovoran je za održavanje FA. Mehaničke i histološke promjene u zahvaćenom atrijskom miokardu rezultiraju električnim promjenama, skraćivanjem uglavnom refraktornog perioda i usporavanjem električne provodljivosti. Ove promjene omogućuju kruženje električnih impulsa, što rezultira širenjem višestrukih valova depolarizacije kroz miokard LA. Međutim, abnormalni supstrat LA uglavnom se pripisivao pacijentima sa strukturnom bolešću srca. Smatralo se da bolesnici s “usamljenom” atrijskom fibrilacijom nemaju abnormalni supstrat LA u ranoj fazi bolesti. Predložen je koncept “fibrilacija atrijsa rađa fibrilaciju atrijsa” kao objašnjenje za postupno histopatološko remodeliranje kao posljedica električnog remodeliranja LA kod bolesnika s FA. U eksperimentalnim životinjskim modelima uočeno je električno remodeliranje LA nakon induciranja FA (7).

Glavni patofiziološki mehanizam širenja FA je anizotropna električna provodljivost u lijevom atrijsu kao posljedica izgubljenih bočnih veza između stanica miokarda zbog interpolirane mikrofibroze (8, 9). Fibroza je potvrđena u histopatološkim nalazima uzoraka aurikule lijevog atrijsa dobivenih tijekom operacije srca u bolesnika s FA (10, 11). Fibroza atrijsa može se učinkovito otkriti i kvantificirati magnetskom rezonancijom (MR) s odgođenim poboljšanjem (12). Mjerenje atrijske fibroze s MR pokazalo se korisnim u odabiru bolesnika i odlučivanju o odgovarajućoj strategiji ablacije (13). Troškovi MR i ograničena dostupnost glavna su ograničenja za rutinsku upotrebu.

#### **1.3.2. Rekurencija fibrilacije atrijsa nakon izolacije plućnih vena**

Fibroza i ožiljci zahvaćenog miokarda rezultiraju nižim naponom električnog signala. Elektro-anatomska voltažno mapiranje (EAVM) uvedeno je 1999. Studija na svinjskom modelu otkrila je korelaciju između histopatoloških nalaza uznapredovale fibroze miokarda lijeve klijetke nakon cijeljenja infarkta i nalaza niske voltaže na EAVM (14). Najveća studija koja je ispitala korelaciju između broja fibroznih područja LA na EAVM i recidiva FA nakon izolacije plućnih vena provedena je 2005. (15). U istraživanju je sudjelovalo 700 uzastopnih pacijenata podvrgnutih izolaciji plućnih vena, od kojih je 40 % imalo paroksizmalnu fibrilaciju

atrija. Prije ablacije provedeno je opsežno mapiranje napona LA s multi-polarnim kateterom (Lasso). Uspoređena je stopa rekurencije FA tijekom 9-mjesečnog praćenja između bolesnika koji su imali više od jednog područja fibroze LA, definiranog vrijednošću napona manjom od 0,5 mV, i bolesnika koji nisu imali fibrozu ili su imali samo jedno područje fibroze. Od 700 pacijenata, 42 bolesnika (6 %) imalo je fibrozu lijevog atrija s aritmetičkom sredinom površine fibroze od 21 % uz standardnu devijaciju 11 %. Bolesnici s fibrozom imali su višu stopu recidiva fibrilacije atrija nakon izolacije plućnih vena u usporedbi s drugim bolesnicima (57 % odnosno 19 %). Fibroza LA bila je jedini značajan prediktor recidiva FA nakon izolacije plućnih vena u multivarijantnoj analizi. Dob, perzistentna FA, veličina LA, trajanje FA, smanjena ejekcijska frakcija (EF) lijeve klijetke i strukturna bolest srca nisu postigli statističku značajnost kao prediktori recidiva. Druga studija provedena 2009. godine uključila je 81 bolesnika liječenih izolacijom plućnih vena, od kojih je 50 % imalo paroksizmalnu fibrilaciju atrija (16). MR je provedena u svih bolesnika, a elektro-anatomsko mapiranje u 67 % bolesnika prije ablacije. MR nalazi su pokazali područja fibroze LA u 47 % bolesnika i ti su bolesnici imali višu stopu recidiva fibrilacije atrija. Stupanj fibroze na temelju vrijednosti napona mjenog kateterom definirana je kao blaga (0,5 - 1,0 mV), umjerena (0,1 - 0,5 mV) i teška (< 0,1 mV). Ovo istraživanje pokazalo je jaku korelaciju između MR i EAVM nalaza fibroze LA.

Godine 2014. Yamaguchi i sur. proveli su istraživanje na 76 bolesnika s FA (85 % s paroksizmalnom i 15 % s perzistentnom) liječenih izolacijom plućnih vena. Na temelju kriterija EAVM-a definirane su dvije skupine bolesnika. Kriterij napona kod fibroze LA postavljen je na 0,5 mV. Bolesnici s fibrozom koja zahvaća > 5% (32 %) površine LA uspoređeni su s bolesnicima koji ne zadovoljavaju ove kriterije. Dvije godine nakon zahvata, bolesnici bez značajne fibroze imali su nižu stopu recidiva FA od bolesnika sa značajnom fibrozom (28 % odnosno 81 %) (17). Najveću studiju koja istražuje opseg fibroze LA u bolesnika s paroksizmalnom i perzistentnom FA objavili su 2018. Huo i sur. Elektro-anatomsko mapiranje provedeno je neposredno prije izolacije plućnih vena u 539 bolesnika s paroksizmalnom i perzistentnom FA. 35 % bolesnika zadovoljavalo je kriterije značajne fibroze lijevog atrija (< 0,5 mV). Unutar skupine s paroksizmalnom FA, 19 % je imalo značajnu fibrozu LA u usporedbi s 54 % u skupini s perzistentnom fibrilacijom atrija. To je bio snažan dokaz da i značajan udio bolesnika s paroksizmalnom AF ima u patološki supstrat, odnosno fibrozu LA (18).

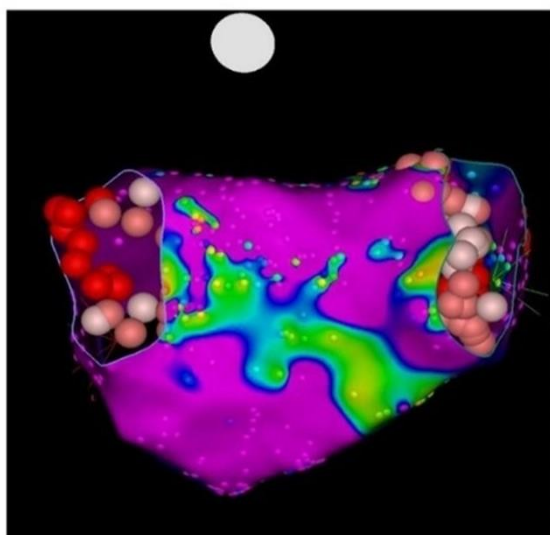


### 1.3.3. Strategija ablacije prilagođena supstratu

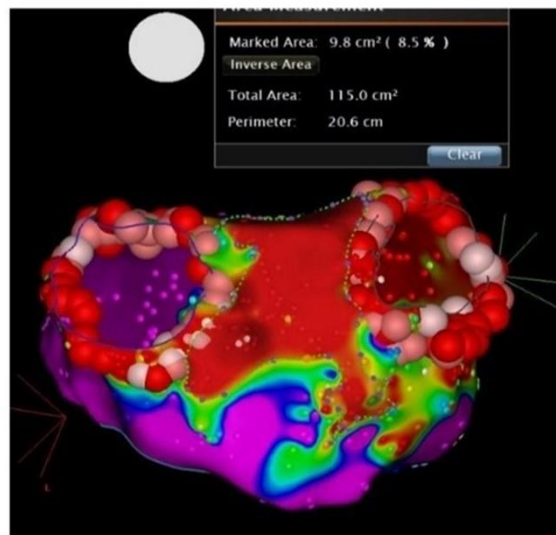
Na temelju ovih rezultata, prva strategija ablacije prilagođena niskovoltaznim područjima LA istražena je u studiji provedenoj 2014. U 178 bolesnika s paroksizmalnom i perzistentnom FA, EAVM je proveden neposredno nakon izolacije plućnih vena. 10 % bolesnika s paroksizmalnom FA i 35 % bolesnika s perzistentnom FA imalo je niskonaponska ( $< 0,5$  mV) područja fibroze. Bolesnici s fibrozom supstratom podijeljeni su u dvije skupine: oni s i oni bez dodatne ablacije fibroznog supstrata (homogenizacija supstrata i dodatne linije linearne ablacije). Godinu dana nakon ablacije u skupini bolesnika bez fibroznog supstrata LA 62 % bolesnika nije imalo recidiv FA. U skupini bolesnika s fibrozom LA koji su uz izolaciju plućnih vena podvrgnuti dodatnoj ablaciji supstrata, 70 % bolesnika nije imalo recidiv FA, dok je samo 27 % bolesnika s fibrozom supstratom liječenih samo izolacijom plućnih vena bilo bez recidiva FA (19).

Na temelju rezultata brojnih prethodnih studija koje pokazuju da fibroza LA nije u korelaciji s bilo kojim drugim potencijalnim pridruženim čimbenicima (klinički tip FA, trajanje aritmije, promjer LA, dob, itd.), Kottkamp i sur. uveli su fibrotičnu atrijalnu kardiomiopatiju (FACM) kao novi entitet (20). Autori su FACM opisali kao idiopatsku kroničnu progresivnu bolest LA odgovornu za perpetuaciju FA u prisutnosti modulatora – pretilosti, arterijske hipertenzije, akutne infekcije i drugih te inicijatora – trigeru iz žarišta plućnih vena. Studija je predložila pet faza FACM-a na temelju težine fibroze. Kriterij normalnog napona postavljen je na iznad 1,5 mV. FACM stadij 0 definiran je kao odsutnost fibroze, FACM stadij I kao prisutnost umjerene fibroze (1,0 - 1,5 mV), FACM stadij II kao prisutnost jednog područja teške fibroze ( $< 0,5$  mV), FACM stadij III kao prisutnost dva ili više područja teške fibroze i FACM stadija IV kao difuzna fibroza koja pokriva većinu površine LA. Također se raspravljalo o potrebi daljnjih studija kako bi se definirali i standardizirali naponski pragovi. Primjeri različitih FACM faza EAVM-a na temelju kriterija o kojima se raspravljalo u studiji koja istražuje korelaciju između LA fibroze i pretilosti prikazani su na slici 1.1. (21).

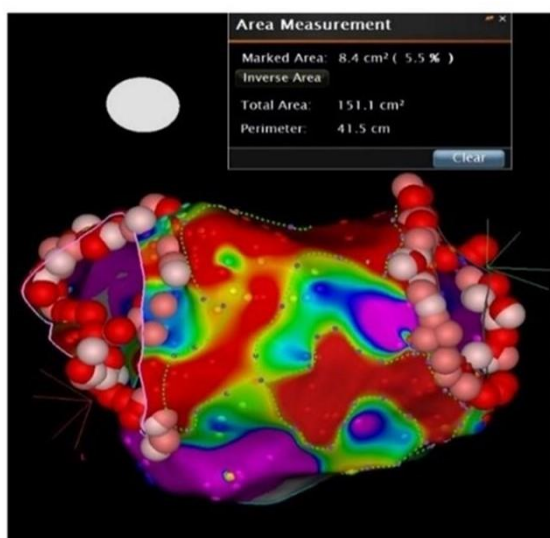
Kottkamp i sur. uveli su novu strategiju ablacije prilagođenu supstratu za pacijente s perzistentnom AF – „box“ izolacija fibroznih područja (BIFA). BIFA se sastoji od ablacije „točku po točku“ oko fibroznog ( $< 0,5$  mV) područja u obliku pravokutnika. Sloboda od recidiva FA bila je značajno veća kada su obavljene i izolacija plućnih vena i BIFA u usporedbi sa samom izolacijom plućnih vena (22).



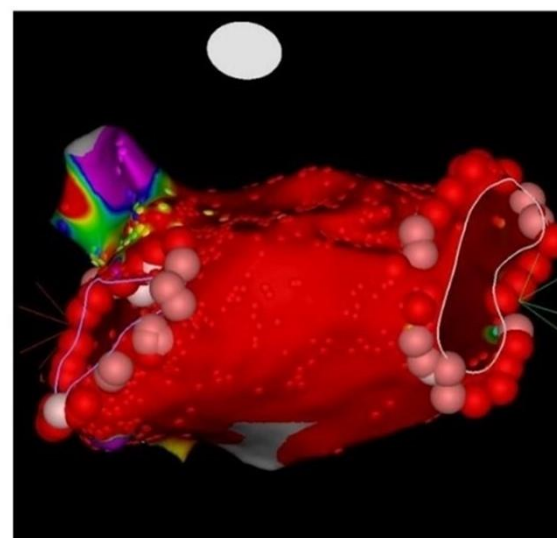
A Bez značajne fibroze



B Jedno područje teške fibroze



C Dva područja teške fibroze



D Difuzna teška fibroza

Slika 1.1. Četiri primjera elektroanatomskih mapa napona LA u bolesnika u različitim stadijima FACM-a. A: FACM 0 - normalan miokard, B: FACM II - jedno područje teške fibroze ( $< 0,5$  mV), C: FACM III - dva područja teške fibroze i D: FACM IV - teška difuzna fibroza ("jagoda" LA). Dobiveno i revidirano iz (21) uz dopuštenje autora.

#### 1.3.4. Uloga kronične upale u patogenezi atrijske fibroze

Fibroza lijevog atrija očito je jedan od najvažnijih čimbenika u patofiziologiji perzistentne FA. Postoji dovoljno dokaza da je fibroza LA glavni čimbenik u značajnom dijelu bolesnika s

paroksizmalnom FA. Predložena koncepcija fibroze LA kao posljedice starenja ili jednostavnog trajanja FAF („FA pobuđuje FA“) sada je u reviziji, budući da su brojne studije koje su koristile MR, EAVM ili histologiju tkiva lijevog atrija pokazale vrlo varijabilan opseg fibroze LA. O dokazu o različitom opsegu fibroze LA bez obzira na paroksizmalni naspram perzistentnog „fenotipa“ i trajanje bolesti, raspravljano je u prethodnom poglavlju.

Dob je najjači faktor rizika za FA. Do 65. godine prevalencija FA u populaciji iznosi oko 3 %, što se povećava pet puta do 85. godine. Ipak, oko 85 % bolesnika u dobi od 85 godina nikada nije imalo fibrilaciju atrija. Kada se uspoređi prevalencija FA i zatajenja srca ili ishemijske bolesti srca, sličan porast može se uočiti sa starenjem. Stoga je vrlo teško razgraničiti utjecaj samog starenja od strukturnih bolesti srca ovisnih o dobi koja predisponiraju pojavi fibrilacije atrija (23). Platonov i sur. proučavali su histopatološke uzorke iz lijevog atrija na obdukcijama 30 pacijenata. Ispitivane su tri skupine bolesnika, usklađene po dobi: bolesnici bez anamneze FA, bolesnici s paroksizmalnom FA i bolesnici s perzistentnom FA (24). Fibroza LA bila je povezana s perzistentnom fibrilacijom atrija, ali ne i s dobi bolesnika.

Prekomjerna težina povezana je s većom prevalencijom FA. Wong i sur. su proveli meta-analizu 51 studije koje su istraživale ovu povezanost. Procijenili su 3,5 - 5,3 % veći rizik od FA za svaku jedinicu povećanja BMI (25). Ova korelacija bila je neovisna o poznatim kardiovaskularnim čimbenicima rizika kao što su dijabetes ili hipertenzija, kao i o strukturnoj bolesti srca nakon infarkta miokarda (26). Tsang i sur. su pet godina pratili 3238 bolesnika s paroksizmalnom FA. Postojala je jaka korelacija između višeg BMI i progresije FA u trajni tip (27). Gubitak tjelesne težine, s druge strane, bio je povezan s većom slobodom od FA i s poboljšanjem kliničkog tipa FA (28). Dokazi o ulozi pretilosti na fibrozu LA su rijetki. Prevalencija i opseg fibroze LA i njezina korelacija s tipom FA i opterećenjem simptoma u bolesnika s abnormalnim BMI nisu istraženi. Isto tako, nije dobro utvrđeno postoji li povezanost između BMI i fibroze LA u bolesnika s FA.

Istražen je mogući proupalni i profibrotički učinak abnormalnog BMI na miokard LA, ali nije pronađena korelacija. U studiji provedenoj na životinjama (model ovaca) na visokokaloričnoj prehrani istražena je korelacija između povećanja tjelesne težine i fibroze LA. Elektrofiziološka studija, MR i histološka analiza provedene su na početku te nakon 4 i 8 mjeseci. Povećanje tjelesne težine povezano je s progresivnim remodeliranjem oba atrija, povećanom količinom perikardijalnog masnog tkiva i heterogenošću u atrijskoj električnoj vodljivosti. Histološki uzorci pokazali su povećanu intersticijsku fibrozu LA nakon debljanja, kao i znakove upalnih procesa (29).

Kardiovaskularni čimbenici rizika povezani s pretilošću, kao što su hipertenzija ili dijabetes, povezani su s progresijom FA. Međutim, nekoliko drugih čimbenika također igra važnu ulogu. Postoji jaka korelacija između dijastoličke disfunkcije lijeve klijetke i rizika od pojave FA (30, 31). Predloženi mehanizam uključuje povećanje LA što rezultira heterogenošću električne vodljivosti, čime se potiče kruženje električkog signala. Povezanost između masnih naslaga koje prekrivaju LA i prevalencije FA temeljito je istražena i utvrđeno je da je važan čimbenik u razvoju FA. Framingham Heart Study Offspring and Third Generation Cohorts analiza je istraživala ukupno 2317 pacijenata i otkrila jasnu povezanost između ukupnog volumena perikardnog masnog tkiva na snimcima kompjuterizirane tomografije (CT) i prevalencije FA (32). Druga studija koja je koristila MR nalaze pacijenata sa i bez FA potvrdila je da je volumen perikardnog masnog tkiva povezan s prevalencijom FA, opterećenjem FA i recidivom FA nakon izolacije plućnih vena (33). Mogući mehanizam može biti lokalni patogeni učinak perikardne masti na aritmogeni supstrat LA koji uključuje interpolaciju masnog tkiva i upalu (34).

Upala igra glavnu ulogu u patogenezi fibroze LA i FA (35). Višestruki signalni putovi odgovorni su za srčanu fibrozu: upala uzrokovana citokinima i kemokinima, aktivacija sustava renin-angiotenzin-aldosteron, oksidativni stres, TGF $\beta$  put, ekspresija metaloproteinaze-9 (MMP-9) zbog mehaničkog rastezanja lijevog atrija i drugi (36).

Dokazi upale mogu se pronaći u staničnoj distribuciji tkiva lijevog atrija i upalnim biljezima, povišenim biomarkerima kronične upale u serumu i kliničkoj korelaciji s drugim srčanim bolestima koje su već povezane s kroničnom upalom. Također postoje dokazi da posttranslacijski procesi stvaranja glikoproteina mogu imati značajnu ulogu u kardiovaskularnim bolestima, uključujući FA.

Frustaci i dr. proučavali su nalaze endomiokardijalne biopsije iz septuma desnog atrija 12 bolesnika s usamljenom FA i 11 zdravih bolesnika u kontrolnoj skupini. Svi bolesnici s FA imali su abnormalne nalaze za razliku od zdravih bolesnika. Od 12 abnormalnih nalaza, 8 bolesnika imalo je limfomononuklearne infiltrate s nekrozom, 2 bolesnika imala su ozbiljnu hipertrofiju s vakuolarnom degeneracijom atrijalnih miocita i dokazom fibrilolize, a 2 bolesnika imala su nespecifičnu fibrozu (37). Chen i sur. proučavali su nalaze biopsije aurikule lijevog i desnog atrija u 35 pacijenata. Uzorci su dobiveni tijekom zamjene mitralne valvule zbog mitralne stenozе. 18 bolesnika imalo je perzistentnu fibrilaciju atrija, a 17 bolesnika nije imalo FA u anamnezi. Broj CD45+ pozitivnih stanica, što upućuje na upalni proces, bio je značajno veći u oba atrija bolesnika s anamnezom FA (38).

C-reaktivni protein (CRP) je nespecifični biomarker akutne i kronične upale. Nastaje kao odgovor na upalne citokine. CRP je povišen u bolesnika s FA, sa značajno višim razinama u onih koji imaju perzistentni oblik (39). Iako studije pokazuju statističku povezanost između povišenog CRP-a i fibrilacije atrijske, u prospektivnim studijama nedostaju dokazi o njegovoj prediktivnoj vrijednosti.

Interleukin-6 proizvode limfociti, a potiče upalni odgovor. Meta-analiza je pokazala povezanost između viših razina IL-6 i FA. Bolesnici s povišenim IL-6 imaju veći rizik od recidiva FA nakon kardioverzije (40). Jedna studija slučaja pokazala je slične koncentracije IL-6 u bolesnika sa i bez anamneze FA, ali značajan porast koncentracije nakon početka epizode FA (41). Ovi dokazi podupiru ulogu IL-6 u promicanju, a ne u pokretanju FA.

TNF $\alpha$  je također povezan s prevalencijom i rekurencijom fibrilacije atrijske (42). Proizvode ga makrofagi i limfociti i ima značajnu ulogu u indukciji upale.

Matriks metaloproteinaza-9 (MMP-9) ima važnu ulogu u razgradnji ekstracelularnog matriksa i fibroznom remodeliranju miokarda. Bolesnici s FA imaju povišenu serumsku koncentraciju MMP-9 koja se postupno povećava s trajanjem FA (43).

Faktor koji određuje rast 15 (GDF-15) pripada superfamiliji TGF $\beta$  citokina koji reagira na stres kao što su: hipoksija, oksidativni stres, upala, ozljeda tkiva i remodeliranje. GDF-15 je povezan s fibrilacijom atrijske (44), kao i sa zatajenjem srca, koronarnom bolešću i drugim kroničnim upalnim i metaboličkim bolestima. Budući da GDF-15 inhibira agregaciju trombocita, ima snažnu prediktivnu vrijednost za rizik od krvarenja povezanog s antikoagulantnom terapijom.

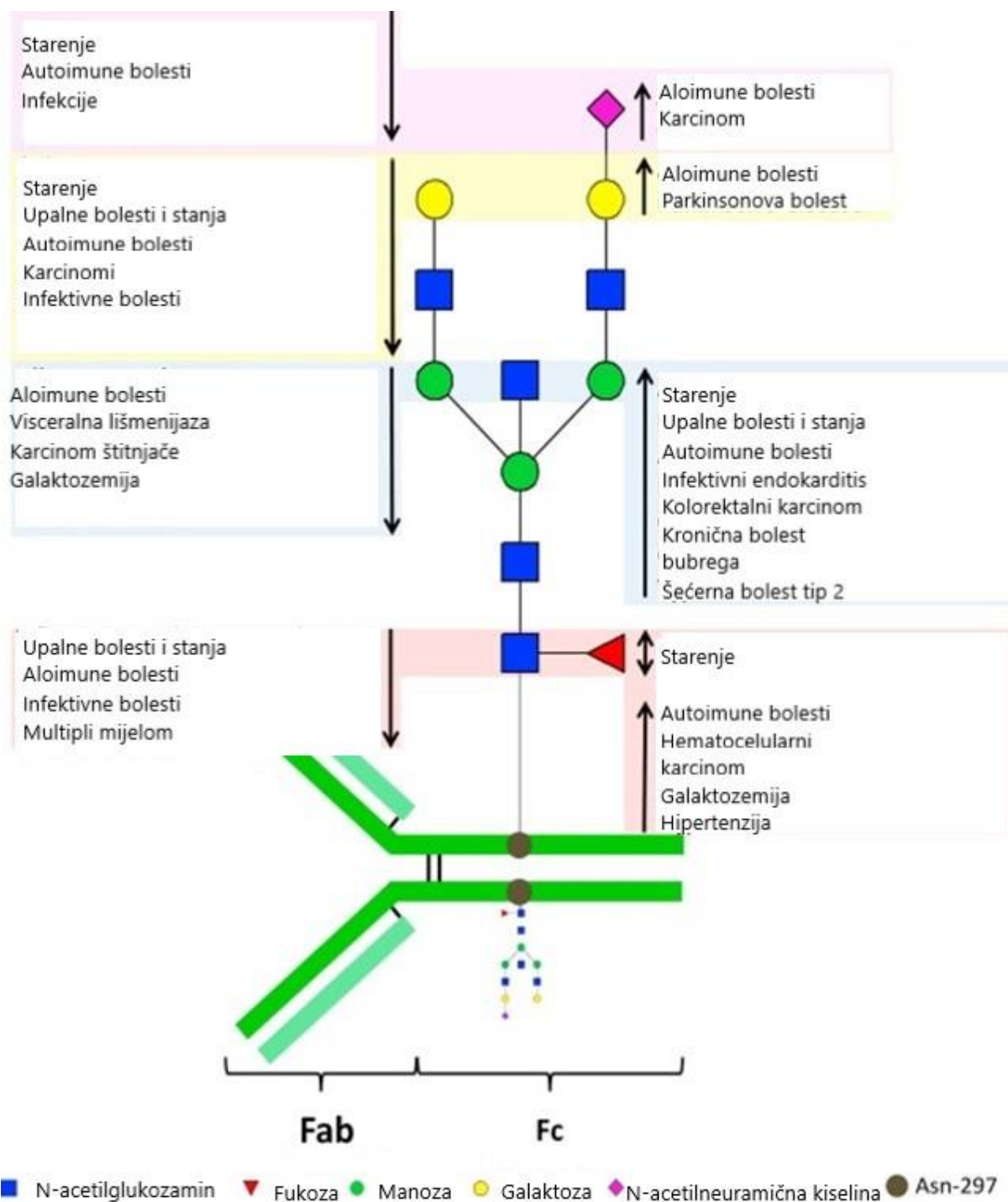
Galektin-3 pripada obitelji galektina, proteina koji vežu  $\beta$ -galaktozide. Od 15 identificiranih galektina, galektin-3 ima najvažniju ulogu kao biomarker za FA. Gal-3 se može naći u citoplazmi, jezgri i staničnoj membrani te kao cirkulirajući oblik u plazmi. Može vezati različite glikane u stanici i regulirati rast stanica. Gal-3 igra ulogu u upali, angiogenezi i staničnoj apoptozi, što sve rezultira atrijskom fibrozom (45). U srcu se Gal-3 uglavnom eksprimira na fibroblastima. Točan mehanizam promicanja proliferacije i aktivacije fibroblasta nije poznat, ali jedna hipoteza sugerira da posreduje svoj učinak putem TGF- $\beta$  signalnog puta. Razine Gal-3 povezane su s prevalencijom fibroze LA mjerenom MR (46). Inhibicija Gal-3 smanjuje inducibilnost FA i povećava vjerojatnost spontane kardioverzije, što sugerira da Gal-3 nije samo biomarker. Gal-3 je također povišen kod kardiovaskularnih bolesti poput zatajenja srca i hipertenzije koje u podlozi dokazano imaju upalni proces (47). Verma i sur. su proučavali Gal-3 u bolesnika koji su bili podvrgnuti izolaciji plućnih vena zbog FA. Gal-3 je pokazao prediktivnu vrijednost za odabir pacijenata koji bi imali koristi od dodatne ablacije supstrata u

usporedbi sa samom izolacijom plućnih vena (48). Druga studija pokazala je snažnu korelaciju između fibroze lijeve atrijske i povišenog Gal-3 (49).

### 1.4. Glikani

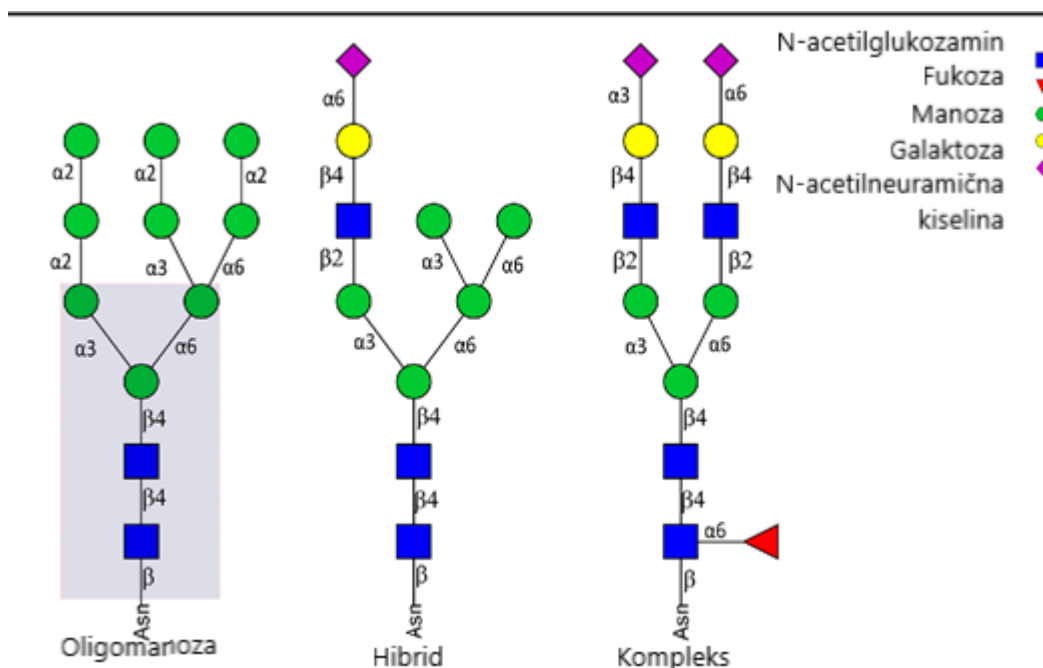
Glikani su složeni oligosaharidi vezani za različite proteine koji tvore glikoproteine. Kovalentno su vezani za imunoglobulin G (IgG). Plazma stanice izlučuju IgG antitijelo u plazmu. Ima veliku ulogu u humoralnim imunološkim procesima kao što su neutralizacija antigena, aktivacija komplementa, citotoksičnost, ovisno o komplementu ili o antitijelima (50). IgG se sastoji od fragmentiranog dijela koji veže antigen (Fab) – i fragmentiranog kristalizirajućeg (Fc) efektorskog dijela. Dva glikana su kovalentno vezana na atom dušika aminokiseline asparagin preko amidne veze na Fc dijelu svake IgG molekule. Stoga je većina IgG glikana definirana kao N-glikani.

Varijacije u sastavu IgG glikana ključne su za konformaciju, strukturnu stabilnost, poluživot i efektornu funkciju IgG. Svi glikani na IgG antitijelima osobe, nazivaju se IgG glikom. IgG glikom varira među populacijama. Kod pojedinca, IgG glikom je konstantan u homeostatskim uvjetima, ali ga mogu mijenjati čimbenici kao što su dob i razina estrogena. U uvjetima akutne upale, IgG glikom se brzo mijenja. Različite bolesti poznate po podlozi kronične upale također mijenjaju IgG glikom. Proces vezivanja različitih glikanskih struktura na molekulu IgG naziva se IgG glikozilacija. IgG glikozilacija je vrlo varijabilna i ovisi o genetskim razlikama i utjecajima okoline. Promjenjivost glikozilacije IgG rezultira nekoliko stotina varijanti IgG kod pojedinca (slika 1.2).



Slika 1.2. Primjer strukture IgG glikana i različitih bolesti kao modificirajućih čimbenika. Dobiveno i revidirano iz (49) uz dopuštenje autora.

Struktura jezgre svih N-vezanih glikana, uključujući oligomanozu, kompleksne i hibridne tipove, ista je i ima dva N-acetilglukozamina (GlcNAc), jedan je povezan s Asn, a drugi s tri manoze (Slika 1.3.). Struktura oligomanoznog tipa formirana je minimalnom obradom manozidazom. Kada se u jedan krak strukture jezgre doda još jedan GlcNAc, nastaje hibridni glikan. Ovaj krak se može proširiti molekulama galaktoze (Gal), sijalične kiseline (SA), fukoze (Fuc) i N-acetilgalaktozamina (GalNAc). Kompleksni N-glikani nastaju kada se GlcNAc doda u oba kraka strukture jezgre i obično se proširuje gore spomenutim molekulama. Različiti oblici kompleksnih N-glikana povezani su s istim proteinima, odražavajući različite bolesti i stanja te stoga imaju ulogu potencijalnih biomarkera bolesti.



Slika 1.3. Primjeri tri različite vrste N-glikana s istom jezgrom. Dobiveno i revidirano iz (52) uz dopuštenje autora.

#### 1.4.1 IgG glikozilacija kao modulator upale

Najvažnije razlike u efektorskoj funkciji IgG povezane su sa sljedećim procesima glikozilacije: galaktozilacijom, sialilacijom, fukozilacijom jezgre i dodavanjem N-acetilglukozamina koji se dijeli na dva dijela. Osobine galaktozilacije vrlo su varijabilne u



ljudskoj populaciji. One se vrlo sporo mijenjaju s godinama, modulirane su razinom estrogena i mogu se odmah promijeniti u slučaju akutne upale. IgG kojem nedostaje terminalna galaktoza u glikanskom lancu (agalaktozilirane IgG osobine) je proupalni i povezan je s različitim bolestima koje karakterizira kronična upala u pozadini zajedno s povećanim razinama različitih biomarkera upale. Sialilacija je važna u modulaciji protuupalnih procesa i smatra se da je odgovorna za učinak visokih doza intravenskih IgG. Smatra se da su osobine IgG bez fukoze u jezgri i s obiljem N-acetilglukozamina proupalne. Osobine glikoma IgG mijenjaju se u različitim bolestima, kao što su autoimune, aloimune, zarazne, metaboličke, kardiovaskularne bolesti i rak, a imaju važnu ulogu u patogenezi upale (50 - 52).

### 1.4.2. IgG glikozilacija u kardiovaskularnim bolestima

Glikozilacija proteina povezana je s patogenezi kardiovaskularnih bolesti (53). Povezanost s O-glikozilacijom je dobro utvrđena. Međutim, nedavno su pronađeni brojni dokazi koji upućuju na važnu ulogu N-glikozilacije, o čemu će se raspravljati u ovoj studiji. U studiji o zdravlju žena (NCT00000479), 27524 pacijentica ispitano je na rizik od kardiovaskularne smrtnosti u korelaciji s razinom ostataka N-acetil glukozamina (GlycA) (54). Bolesnici s povišenim razinama GlycA imaju značajno longitudinalno povećanje kardiovaskularne smrtnosti tijekom 5-godišnjeg razdoblja, čak i nakon prilagodbe s poznatim čimbenicima rizika i razinom CRP-a.

Poznato je da je ateroskleroza kronična upalna bolest koja zahvaća arterijske stijenke. Patogeneza uključuje nakupljanje leukocita, lipida i glatkih vaskularnih stanica u intimi arterija, što rezultira sužavanjem arterija, ishemijom miokarda i posljedično infarktom miokarda. Menni i sur. proučavali su korelaciju između različitih svojstava glikozilacije IgG u žena iz poznate skupine Twins UK, njihov 10-godišnji kardiovaskularni rizik procijenjen uobičajeno korištenim bodovnim sustavom i Doppler ultrazvučnim nalazima aterosklerotskih plakova u femoralnim i karotidnim arterijama (55). Pronašli su 8 osobina IgG neovisno povezanih s aterosklerozom, 5 pozitivno i 3 negativno. Točnije, veća zastupljenost bisecting GlcNAc bila je pozitivno povezana s nalazom karotidnih i femoralnih aterosklerotskih plakova, dok su sialilirani glikani koji ne sadrže bisecting GlcNAc bili negativno povezani. Za 10-godišnju procjenu rizika od ateroskleroze korišten je ASCVD bodovni sustav rizika koji uključuje poznate čimbenike rizika: spol, dob, etničku pripadnost, sistolički krvni tlak, šećernu bolest tipa 2, nizak kolesterol lipoproteina visoke gustoće (HDL), visoki ukupni kolesterol, pušački status i korištenje antihipertenzivnih lijekova.

Suzuki i sur. su proučavali proteine s različitih mjesta stenotičnih aortnih zalistaka u 6 pacijenata koji su bili podvrgnuti zamjeni aortnog zaliska. Pronašli su hipoglikozilirani protein lumican u hipertrofičnim i kalcificiranim dijelovima zalistaka za razliku od zdravih dijelova, što upućuje na moguću ulogu glikozilacije u patogenezi aortne stenozе (56).

U životinjskom modelu štakora s induciranom hipertenzijom i posljedičnom hipertrofijom LV i zatajenjem srca, skupina autora pronašla je dokaze o promjenama u obrascu glikozilacije, točnije O-glikozilaciji mucinskog tipa i defukozilaciji jezgre (57). Ovi nalazi upućuju na potencijalni dodatni biomarker u ovoj vrsti kardiovaskularnih bolesti, zajedno s B-tipom natriuretskog peptida (BNP). I BNP i njegov receptor su glikozilirani i njihove varijante glikozilacije povezane su s patogeneзом zatajenja srca (58).

Povezanost hipertenzije i specifičnih osobina IgG dokazana je u studiji provedenoj na 4575 pacijenata iz Kine, Hrvatske i Škotske. Bolesnici s hipertenzijom imali su snižene razine galaktoziliranih, sijaliranih i jezgri fukoziliranih IgG N-glikana, što sugerira da ove osobine IgG igraju ulogu u upalnoj patogenezi hipertenzije (59).

Barallobre-Barreiro i sur. proveli su studiju o srčanom ekstracelularnom matriksu, uključujući distribuciju glikoproteina (60). Tkiva aurikule lijevog i desnog atrija dobivena su kirurški od 14 pacijenata tijekom operacije aorto-koronarnog premoštenja. Utvrđena je razlika u obradi proteoglikanskog dekorina u aurikulama bolesnika s perzistentnom FA. Razine dekorina pune duljine bile su veće u bolesnika s FA. Mjesto cijepanja pronađeno je specifično u bolesnika s FA. Mjesto cijepanja odgovorno je za onemogućavanje N-terminalnog dijela dekorina koji je važan za vezanje miostatina, molekule ključne za rast stanica i kontrolu diferencijacije. Inhibicija miostatina u bolesnika s FA rezultira povećanjem veličine miocita. Dekorin također ima važnu ulogu u profibroznim procesima. Njegovi strukturni dijelovi reagiraju na kolagen, pri čemu receptori stanične površine i faktori rasta mijenjaju njihovu bioraspoloživost i aktivnost. C-terminalno mjesto cijepanja dekorina prisutno je u izobilju u bolesnika s FA, modulirajući aktivnost faktora rasta vezivnog tkiva i posljedično promičući fibrozu. Ovo je važan dokaz uloge glikozilacije u remodelaciji (hipertrofija i fibroza) ljudskog LA u bolesnika s FA.

## **2. HIPOTEZA**

Specifične osobine glikozilacije N-glikana imunoglobulina G povezane su s fibrozom lijevog atrija i ponovnom pojavom fibrilacije atrija nakon izolacije plućnih vena.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

**PRIMARNI CILJ:** Utvrditi postoji li povezanost između specifičnih svojstava glikozilacije N-glikana imunoglobulina G i recidiva fibrilacije atrijske nakon izolacije plućnih vena.

**SEKUNDARNI CILJ:** Utvrditi postoji li povezanost između specifičnih svojstava glikozilacije N-glikana imunoglobulina G i uznapredovale fibroze lijevog atrijske.

## 4. ISPITANICI I METODE

### 4.1. Ustroj istraživanja

Istraživanje je bilo prospektivno i opservacijsko. Bolesnici s najmanje dvije epizode simptomatske paroksizmalne ili perzistentne FA u anamnezi bili su uzastopno uključeni neposredno prije planiranog postupka izolacije plućnih vena. Simptomatska fibrilacija atriya definirana je kao ona koju je pacijent prepoznao kao neugodan događaj i koja je na elektrokardiogramu dokumentirana da traje najmanje 5 minuta. Uključeni su bolesnici s paroksizmalnom ili perzistentnom FA. Paroksizmalna FA definirana je kao FA koja je spontano prekinuta bez intravenske primjene antiaritmika ili bez elektrokardioverzije. Perzistentna fibrilacija atriya definirana je kao FA koja je prekinuta intravenskom primjenom antiaritmika ili elektrokardioverzijom u kratkotrajnoj općoj anesteziji i koja je trajala manje od godinu dana. Trajna fibrilacija atriya je isključni kriterij. Definirana je kao FA koji traje više od godinu dana i uključuje kliničku odluku da se odustane od održavanja sinusnog ritma. FA u trajanju više od godinu dana bio je isključni kriterij ovog istraživanja bez obzira na planirano uspostavljanje sinusnog ritma antiaritmikima ili elektrokardioverzijom.

U ovo istraživanje uključeni su samo bolesnici koji zadovoljavaju gore navedene kriterije s indikacijom za izolaciju plućnih vena, bez obzira na neuspjeh prijašnje terapije antiaritmičkim lijekovima.

Istraživanje je trebalo obuhvatiti 120 ispitanika, pacijenata Klinike Magdalena, u razdoblju od godinu dana, pri čemu su svi pacijenti praćeni 6 mjeseci nakon zahvata izolacije plućnih vena. Svaki od tri segmenta istraživanja – 1) mjerenje profila glikana, 2) mjerenje površine fibroze lijevog atriya i postupak izolacije plućne vene i 3) transtelefonsko praćenje EKG-a – provodio je drugi istraživač, slijep na druge rezultate.

Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Osijeku odobrilo je istraživanje (KLASA: 602-04/19-08/04, UR. BR.: 2158-61-07-19-09). Informirani pristanak potpisali su svi pacijenti nakon informiranja o liječenju, detaljima studije i njihovim pravima.

## **4.2. Ispitanici**

### **4.2.1. Uključni kriteriji**

1) dvije ili više simptomatske epizode fibrilacije atriya u trajanju od najmanje 5 minuta dokumentirane na EKG-u; 2) bolesnici stariji od 18 godina; 3) indikacija za zahvat izolacije plućnih vena; 3) potpisani informirani pristanak.

### **4.2.2. Isključni kriteriji**

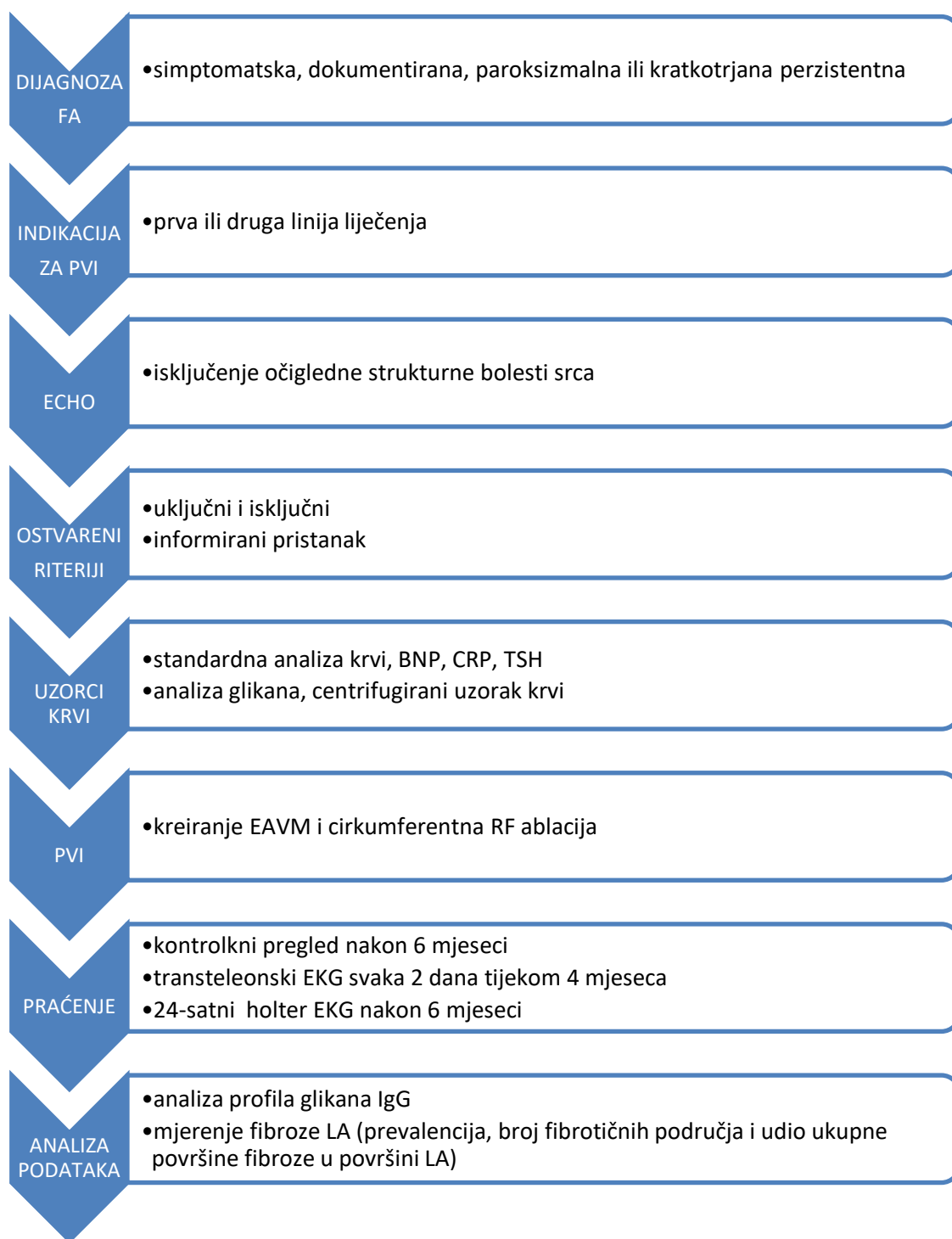
1) trajna fibrilacija atriya (> 12 mjeseci); 2) prethodni postupak izolacije plućnih vena; 3) ejekcijska frakcija lijeve klijetke izmjerena ultrazvukom srca < 50 %; 4) infarkt miokarda; 5) primarna kardiomiopatija bez obzira na ejekcijsku frakciju LV; 6) dijagnoza akutne upalne bolesti; 7) CRP > 10 mg/L; 8) dijagnoza kronične upalne bolesti; 9) maligna neoplazma u anamnezi; 10) hipotireoza ili hipertireoza.

### **4.2.3. Plan i shema istraživanja**

Svi pacijenti koji su zadovoljili uključne i isključne kriterije konsektivno su uključeni u istraživanje nakon potpisivanja informiranog pristanka (Slika 4.1.). Svi bolesnici su podvrgnuti standardnoj ehokardiografiji kako bi se isključila bilo kakva strukturna bolest srca. Standardni osnovni preoperativni ehokardiografski pregled uključivao je dimenzije vidljivog dijela ascendentne aorte, dimenzije lijeve klijetke u sistoli i dijastoli, debljinu septuma i stražnje stijenke, procjenu LV EF, procjenu funkcije zalistaka Dopplerom, dimenzije i funkciju desne klijetke i indirektno mjerenje tlaka u plućnoj arteriji. Transezofagealni ehokardiografski pregled učinjen je prije zahvata izolacije plućnih vena kako bi se isključio tromb u aurikuli LA. Prije planiranog zahvata izolacije plućnih vena, uzeti su uzorci krvi za rutinske pretrage krvi i biokemijske pretrage koje su uključivale hemoglobin, kreatinin, moždani-natriuretski peptid (BNP), hormon koji stimulira štitnjaču (TSH) i C-reaktivni protein (CRP). Prije zahvata uzet je još jedan uzorak krvi za analizu glikana. Uzorak je sadržavao 8 mL venske krvi pacijenta pohranjene u epruveti koja je anonimizirana, označena i centrifugirana kako bi se izolirala plazma koja je potom pohranjena u hladnjaku na -20 stupnjeva Celzija. Antikoagulantna terapija je nastavljena 2 mjeseca ako pacijent nije imao indikacije za trajnu antikoagulantnu terapiju (CHADS2VASC2 rezultat 0 i 1) ili trajno ako je takva indikacija postojala (CHADS2VASC2 ocjena 2 ili više). Terapija održavanja sinusnog ritma (propafenon,

amiodaron, sotalol ili flekainid) nastavljena je prva 2 mjeseca nakon zahvata, a zatim je prekinuta. Liječenje inhibitorima protonske pumpe (PPI), 40 mg dnevno, za prevenciju lezija jednjaka započelo je odmah nakon zahvata i nastavilo se 6 tjedana. Sva ostala terapija lijekovima je nastavljena prema indikacijama.

Slika 4.1. Shema istraživanja



### 4.3. Metode

#### 4.3.1. Klinički parametri

Ispitani su klinički parametri uključujući demografske parametre (dob i spol), BMI, klinički tip FA (perzistentna i paroksizmalna), uzimanje lijekova (uključujući antikoagulanse i antiaritmike) i komorbiditeti: hipertenzija, koronarna bolest, infarkt miokarda, kardiomiopatija, dijabetes, moždani udar, akutne i kronične upalne bolesti, autoimune bolesti uključujući bolesti štitnjače i maligne neoplazme. Korištena je definicija BMI Svjetske zdravstvene organizacije: BMI < 25 kg/m<sup>2</sup> za pacijente normalne tjelesne težine, BMI između 25 i 30 kg/m<sup>2</sup> za bolesnike s prekomjernom tjelesnom težinom i BMI ≥ 30 kg/m<sup>2</sup> za pretilo pacijente.

#### 4.3.2. Procjena fibroze lijevog atrija

Brza anatomska mapa i elektroanatomska voltažna mapa (EAVM) LA kreirana je kod svakog pacijenta neposredno prije izolacije plućnih vena pomoću ablacijskog katetera sa senzorom kontaktne silu (SmartTouch, Biosense Webster) i 3D sustava za mapiranje (Carto 3, Biosense Webster) (18, 61). Mapiranje je izvedeno s minimalno 400 pojedinačnih točaka ravnomjerno raspoređenih na površini LA i isključivo u sinusnom ritmu. Točke koje su dosegle kontaktnu silu od < 5 grama i ≥ 20 grama isključene su iz mape. Program je prikazao površine LA sličnog napona u istoj boji. Niskovoltazne zone (NVZ) s naponskim kriterijem ≤ 0,5 mV prikazane su crvenom bojom, što upućuje na uznapredovalu fibrozu LA. Područja s kriterijem napona između 0,5 i 1,5 mV prikazana su plavom i zelenom bojom, što predstavlja umjerenu fibrozu LA. Zdravo tkivo definirano je vrijednostima napona iznad 1,5 mV i prikazano je ljubičastom bojom. Gustoća točaka postavljena je na minimalnu udaljenost od 5 mm između svake dvije točke. Sustav je programiran da na kraju izdisaja uzima samo točke koje su zadovoljile kriterije minimalne kontaktne sile od 5 grama i stabilnosti katetera. Sljedeći parametri izračunati su na temelju EAVM pomoću softvera Biosense Webster Carto 3: volumen LA, ukupna površina LA, broj NVZ-a (opisano točkama napona ≤ 0,5 mV) i ukupna površina NVZ-a (61 - 72).



### 4.3.3. Izolacija plućnih vena

Prije i tijekom zahvata davana je sljedeća medikamentozna terapija: a) Dormicum 7,5 mg per os prije zahvata za sedaciju, b) Fentanil 1 - 5 mL u venu prema potrebi tijekom postupka za analgeziju.

Terapija antikoagulansima bila je minimalno prekinuta ili neprekidna. Bolesnici na varfarinu nisu prekinuli terapiju. Bolesnici na izravnom faktoru X ili inhibitorima trombina izostavili su samo jutarnju dozu lijeka na dan zahvata ako je zahvat planiran za manje od 4 sata. Posljednja doza je uzeta večer prije zahvata ili više od 4 sata prije zahvata, a prva sljedeća doza 4 sata nakon zahvata.

Neposredno prije odnosno nakon transseptalne punkcije, intravenski je primijenjen nefrakcionirani heparin (ukupno 10 000 jedinica) uz kontrolu aktiviranog vremena zgrušavanja (ACT) do postizanja ciljnih vrijednosti, a zatim svakih 30 - 45 minuta tijekom trajanja postupka. Heparinizirana (5 000 jedinica) fiziološka otopina je davana kontinuirano preko uvodnica u LA. ACT je održavan između 300 i 350 s. Da bi se postigla odgovarajuća vrijednost ACT, davane su dodatne doze nefrakcioniranog heparina prema procjeni operatera.

Zahvat je izveden korištenjem 3D sustava mapiranja (Carto3, Biosense Webster, Diamond Bar, California) isključivo u sinusnom ritmu. Ako je ispitanik bio u fibrilaciji atrijske, prije zahvata učinjena je elektrokardioverzija u kratkotrajnoj općoj anesteziji (sinkronizirana elektrokardioverzija sa 120 J). Nakon stavljanja tri 8F uvodnica u desnu femoralnu venu, dekapolarni kateter (Biosense Webster bidirectional) postavljen je u koronarni sinus pod kontrolom X-zraka. Dvije dugačke uvodnice su zatim stavljene u lijevu pretklijetku jednom ili dvjema transseptalnim punkcijama pomoću transseptalne igle (Brockenbrough) pod kontrolom X-zraka: jedna unaprijed oblikovana 8F uvodnica (Biosense Webster) i jedna upravljiva 8F uvodnica (MobiCath, Biosense Webster ili Agilis, Abbott).

20-polarni kateter (Lasso, Biosense Webster) postavljen je u lijevi atrij za detekciju električnih signala u plućnim venama. U lijevu pretklijetku (73 - 81) postavljen je ablacijski kateter sa senzorom sile pritiska – “contact force” kateter (SmartTouch, Biosense Webster). EAVM je izveden kako je prije opisano.

PVI je izveden metodom ablacije „točku po točku“ uz radiofrekventnu energiju od 30 W i hlađeni vrh katetera. Ablacija je rađena široko oko ušća lijevih, a zatim i desnih plućnih vena dok se ne ispune kriteriji indeksa ablacije 400 za stražnji zid i 500 za ostale segmente (82). Maksimalni razmak između dvije točke bio je 5 mm. Krajnja točka izolacije plućne vene

određena je blokom ulaza električnog signala potvrđenim Lasso kateterom u svakoj plućnoj veni i izlaznim blokom potvrđenim elektrostimulacijom iz plućne vene koja stimulira plućnu venu, ali ne i lijevu pretklijetku.

Ako je na kraju zahvata ispitanik bio u fibrilaciji atrijske, elektrokardioverzija je izvedena u kratkotrajnoj općoj anesteziji. Duge uvodnice su zamijenjene kratkim, koje su uklonjene kompresijskom hemostazom 2 - 4 sata nakon zahvata.

#### 4.3.4. Analiza N-glikoma

Uzorkovanje u svrhu izrade glikanskog profila učinjeno je prije zahvata tako da je 8 mL venske krvi skupljeno u epruvetu koja se anonimno označila i centrifugirala kako bi se izolirala plazma koja se potom čuvala u hladnjaku na -20 stupnjeva Celzija.

U svakom testu analiziran je sljedeći broj biomarkera: za IgG N-glikom – 24 glikanske strukture mjerene izravno (vrhunci glikana) i 6 izvedenih svojstava (izračunato od tih 24) i za N-glikom u plazmi: 39 glikanskih struktura mjenjenih izravno (glikanski vrhovi) i 12 izvedenih osobina (izračunato od tih 39). Protokol je detaljno opisan u prethodno objavljenim znanstvenim radovima (83, 84).

Za potrebe analize IgG N-glikoma, IgG je izoliran iz krvne plazme ili seruma s CIM® Protein G s 96-well pločom (BIA Separations, Ajdovščina, Slovenija) pomoću vakuumske razdjelnice (Pall, Ann Arbor, MI). N-glikani su oslobođeni inkubacijom sa specifičnim enzimom N-glikozidaze F (PNGase F). Obilježavanje slobodnih N-glikana provedeno je s 2-aminobenzamidom. Sljedeći korak bio je čišćenje 2-AB-obilježenih N-glikana, nakon čega je uslijedila ultra-performance tekuća kromatografija. Fluorescentno obilježeni N-glikani razdvojeni su pomoću HILIC-a na Acquity UPLC instrumentu (Waters, SAD) koji se sastoji od kvartarnog upravitelja otapala, upravitelja uzorka i FLR fluorescentnog detektora postavljenog na valne duljine ekscitacije i emisije od 250, odnosno 428 nm. Konačno, obrada podataka provedena je tradicionalnom metodom automatske obrade nakon čega je slijedila ručna korekcija svakog kromatograma, što je rezultiralo s 24 vrha odvojenih kromatograma.

U slučaju N-glikoma u plazmi, N-glikani su oslobođeni inkubacijom s enzimom N-glikozidazom F i tretirani kako je prethodno opisano (83 - 86). Označavanje slobodnih N-glikana provedeno je s 2-aminobenzamidom. Nakon čišćenja 2-AB-obilježenih N-glikana, provedena je ultra-performance tekuća kromatografija. Fluorescentno obilježeni N-glikani razdvojeni su pomoću HILIC-a na Acquity instrumentu ultra-performance tekuće kromatografije (UPLC), (Waters, SAD) koji se sastoji od kvartarnog upravitelja otapala, upravitelja uzorka i FLR detektora fluorescencije postavljenih na valne duljine ekscitacije i

emisije od 250 i 428 nm. Konačno, obrada podataka provedena je tradicionalnom metodom automatske obrade nakon čega je slijedila ručna korekcija svakog kromatograma, što je rezultiralo s 39 vrhova odvojenih kromatograma.

#### **4.3.5. Praćenje bolesnika**

Bolesnici su praćeni 6 mjeseci nakon zahvata. Ponavljanje fibrilacije atrijske mjereno je anamnezom bolesnika, transtelefonim EKG nalazima i 24-satnim holter EKG nalazima. Pacijenti su upućeni da šalju transtelefone digitalne EKG zapise putem posebnog uređaja svaka 2 - 3 dana u ukupnom razdoblju od 4 mjeseca (od 3. do 7. mjeseca nakon zahvata). Svi pacijenti su prošli kratak tečaj o korištenju uređaja.

Ambulantni kontrolni pregled bio je zakazan nakon 6 mjeseci i uključivao je uzimanje anamneze simptoma ponavljanja fibrilacije atrijske od 3. do 7. mjeseca nakon zahvata, 12-kanalni EKG i 24-satni holter EKG nalaz.

Svaki pacijent, koji je imao barem jedan jasan simptom fibrilacije atrijske tijekom razdoblja praćenja ili epizodu fibrilacije atrijske koja je trajala najmanje 30 sekundi i koju je EKG uređaj zabilježio na bilo koji od prethodno opisanih načina, smatralo se da je imao recidiv.

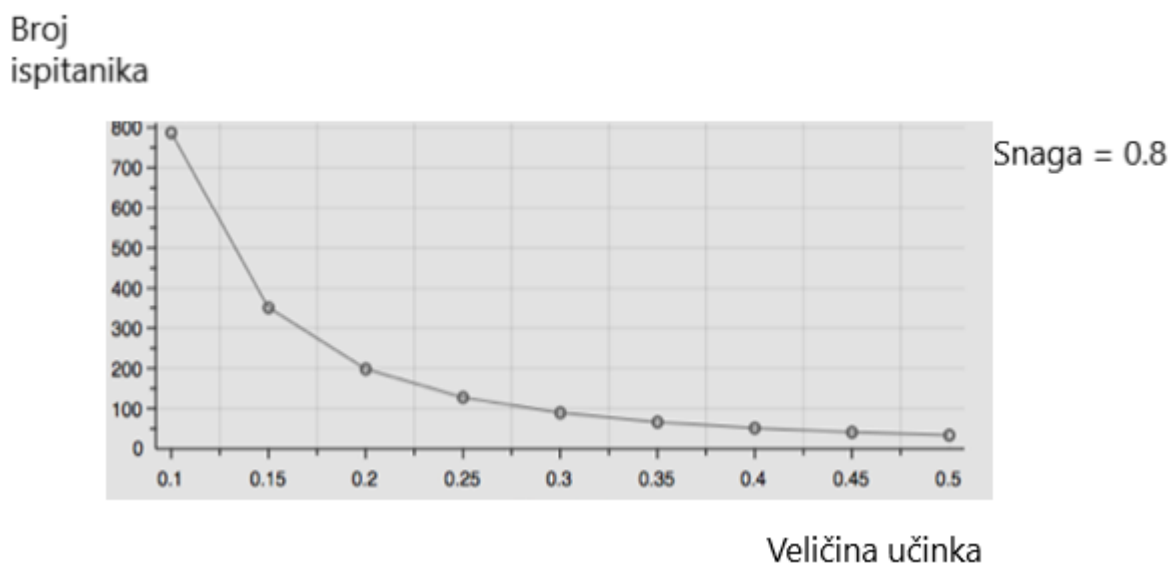
#### **4.4. Analiza podataka**

##### **4.4.1. Statističke metode**

Razlike u N-glikozilaciji imunoglobulina G između bolesnika s fibrilacijom atrijske i zdravih kontrola analizirane su pomoću modela analize kovarijance (ANCOVA). Statistički model uključivao je dobne i spolne varijable za kontrolu njihovih učinaka. Također, unutar skupine bolesnika s FA modelom ANCOVA je utvrđeno postoji li povezanost između imunoglobulina G N-glikoma i drugih kliničkih varijabli. Stopa pogreške u višestrukim usporedbama kontrolirana je Benjamini-Hochbergovom procedurom. Podaci su analizirani i vizualizirani pomoću programskog jezika Python (verzija 3.8.3) i Jupyter Notebooks (87).

#### 4.4.2. Procjena veličine uzorka

Istraživanje je trebalo uključiti 120 uzastopnih pacijenata koji su bili podvrgnuti izolaciji plućnih vena. Ova veličina uzorka procijenjena je provođenjem sljedeće statističke analize: veličina uzorka za ANCOVA test zadane snage 0,8, uz mogućnost pogreške  $\alpha$  0,05 i prosječnu veličinu učinka od 0,3 bila je 98 ispitanika. Oko 20 % dodatnih ispitanika dodano je ovom uzorku zbog mogućeg odustajanja od istraživanja (Slika 4.2.).



Slika 4.2. Procjena veličine uzorka: ANCOVA

## 5. REZULTATI

### 5.1. Karakteristike bolesnika

Ukupno je 114 pacijenata završilo istraživanje (35 % žena i 65 % muškaraca). Osnovne karakteristike bolesnika prikazane su u Tablici 5.1. Aritmetička sredina dobi bila je 61, a standardna devijacija 9 godina. 30 (27 %) bolesnika imalo je perzistentnu FA, a 83 (73 %) bolesnika paroksizmalnu FA.

Tablica 5.1. Karakteristike bolesnika stratificirane prisutnošću značajne fibroze LA. Dobiveno i revidirano iz (21) uz dopuštenje autora.

Varijable	Svi bolesnici n = 114	Skupina bez fibroze n = 52	Skupina s fibrozom n = 62
Dob, aritmetička sredina (SD)	61,5 (8,7)	62,5 (9)	62,6 (8,3)
Muškarci, n (%)	74 (65)	36 (69)	37 (60)
BMI, kg/m <sup>2</sup> , aritmetička sredina (SD)	29,1 (4,4)	29,3 (4,5)	28,9 (4,3)
Normalni BMI, n (%)	21 (19)	9 (18)	12 (19)
Prekomjerna težina, n (%)	46 (40)	22 (42)	24 (39)
Pretilost, n (%)	47 (41)	21 (40)	26 (42)
Perzistentna FA, n (%)	30 (27)	12 (23)	18 (29)
Anamneza hipertenzije, n (%)	68 (60)	31 (60)	37 (60)
Anamneza šećerne bolesti, n (%)	9 (8)	4 (8)	5 (8)
Anamneza cerebrovaskularnog incidentna, n (%)	6 (5)	4 (8)	2 (3)
Koronarna bolest, n (%)	14 (12)	6 (12)	8 (13)
CHA <sub>2</sub> DS <sub>2</sub> -VASC skor, medijan (IQR)	2 (1 - 3)	1 (0 - 2,75)	2 (1 - 3)
<i>Antiaritmici</i>			
Ne uzima, n (%)	30 (27)	20 (39)	10 (16)
Skupina I, n (%)	44 (39)	15 (29)	29 (47)
Skupina III, n (%)	39 (34)	17 (32)	22 (35)
<i>Antikoagulansi</i>			
Ne uzima, n (%)	2 (2)	2 (4)	0
VKA, n (%)	24 (21)	9 (17)	15 (24)
NOAK, n (%)	87 (77)	41 (79)	47 (76)
<i>Ostali lijekovi</i>			
ACE/ARB n (%)	67 (59)	24 (46)	43 (69)
Statini n (%)	42 (37)	20 (38)	22 (35)

BMI – indeks tjelesne mase (prema eng. *body mass* indeks), SD – standardna devijacija, FA - fibrilacija atrijska, IQR – interkvartilni raspon (prema eng. *interquartile* range), VKA - antagonist vitamina K (prema eng. *vitamin K antagonist*), NOAK – novi oralni antikoagulansi, ACE/ARB – inhibitori angiotenzin-konvertirajućeg enzima odnosno angiotenzina i renina.

Aritmetička sredina BMI za cijelu kohortu bio je 29,1 kg/m<sup>2</sup>, a standardna devijacija 4,4 kg/m<sup>2</sup>. Samo 21 (18%) bolesnik imao je normalan BMI, 46 (41%) bolesnika imalo je prekomjernu tjelesnu težinu, a 46 (41%) bolesnika bilo je pretilo. Prevalencija hipertenzije, dijabetesa, moždanog udara i koronarne arterijske bolesti u skupini iznosila je 60 %, 8 %, 5 % i 12 %. Većina bolesnika imala je neuspješnu antiaritmičku terapiju (Klasa I i Klasa III, 39 % odnosno 34 %, respektivno) i na početku su bili na antikoagulaciji (NOAC i VKA, 77 % odnosno 21 %). Standardna 2D ehokardiografija učinjena je u svih bolesnika te je u skupini bolesnika bez fibroze izmjerena aritmetička sredina volumena LA od 56 cm<sup>3</sup>, a standardna devijacija 19 cm<sup>3</sup>, dok su bolesnici s fibrozom LA imali aritmetičku sredinu volumena 62 cm<sup>3</sup> uz standardnu devijaciju 22 cm<sup>3</sup>. Značajno veća aritmetička sredina volumena LA dobivena je 3D mapiranjem; 127 cm<sup>3</sup> uz standardnu devijaciju 3 cm<sup>3</sup> u skupini bez fibroze i 128 cm<sup>3</sup> uz standardnu devijaciju 2 cm<sup>3</sup> u skupini s LA fibrozom. Aritmetička sredina površine LA bila je slična u obje skupine: 149,8 cm<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 27 cm<sup>2</sup> u skupini bez fibroze, u usporedbi sa 151,6 cm<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 35 cm<sup>2</sup> u skupini bolesnika s fibrozom.

U svih bolesnika postignuta je potpuna izolacija sve četiri plućne vene postizanjem dvosmjernog provodnog bloka. Kod jednog bolesnika nakon zahvata došlo je do tamponade koja je liječena perikardiocentezom. Nikakve druge komplikacije nisu zabilježene perioperativno ili tijekom šestomjesečnog razdoblja praćenja. Tijekom šestomjesečnog razdoblja praćenja, snimljeno je i analizirano 5039 trans-telefonskih EKG-a, s medijanom od 47 i interkvartilnim rasponom 35 - 59 EKG-a po pacijentu.

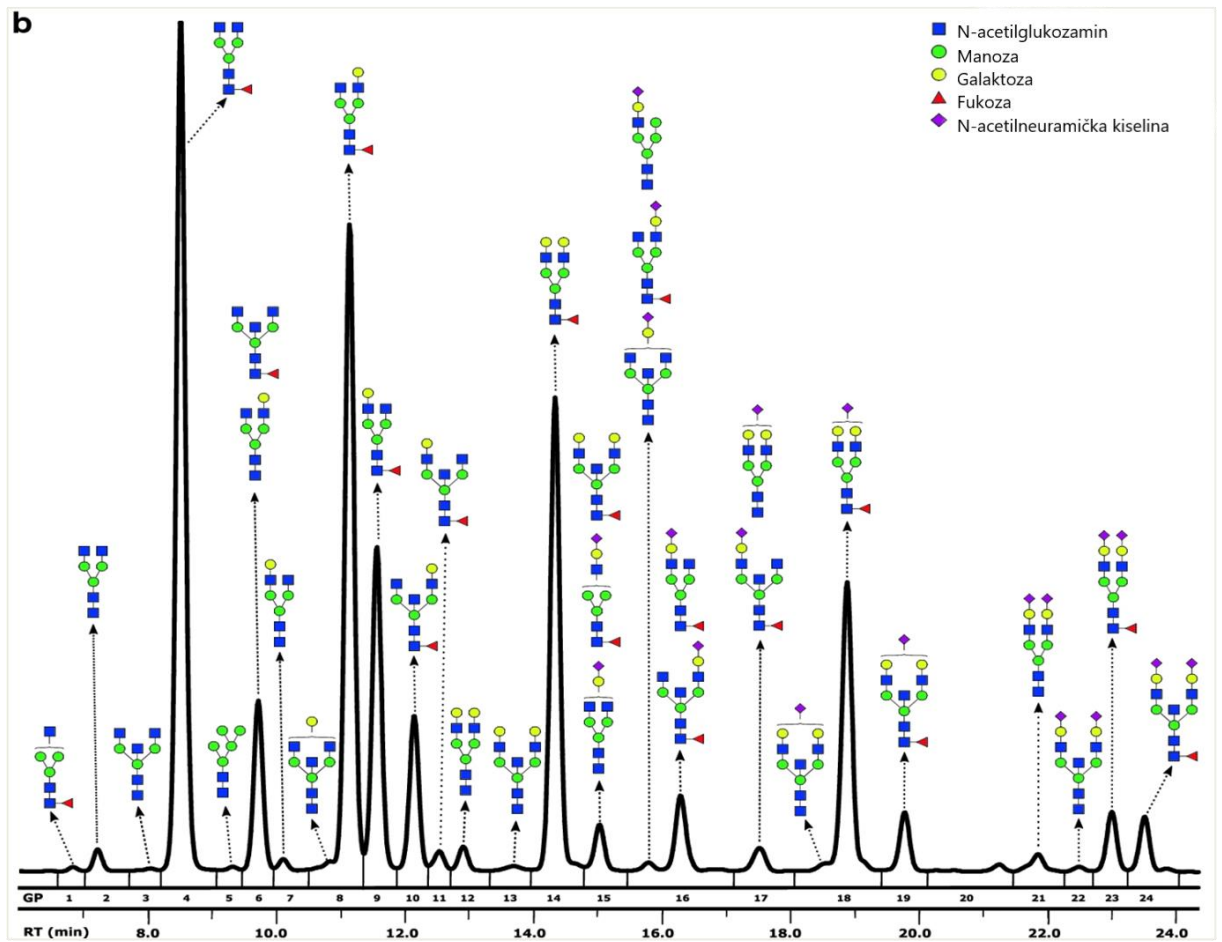
## **5.2. Fibroza lijevog atrija**

Fibroza lijevog atrija opisana nisko-voltažnim zonama  $\leq 0.5$  mV na EAVM pronađena je u 86 bolesnika (76 %). Značajna fibroza LA ( $\geq 5\%$  površine LA) pronađena je u 62 bolesnika (54 %). Medijan broja NVZ-a bio je 2 s interkvartilnim rasponom od 0 - 3. U jednog bolesnika maksimalni broj NVZ-a bio je 9. Uznapredovala fibroza LA, koja pokriva 100 % površine tijela LA, pronađena je u 15 pacijenata (13 %). Medijan ukupne fibrozne površine bio je 27,3 cm<sup>2</sup> s interkvartilnim rasponom od 0,1 – 30,3 cm<sup>2</sup> (0,1 – 19,9 %).

## **5.3. Razlike u raspodjeli IgGN-glikana i N-glikana u plazmi između bolesnika s i bez recidiva FA nakon izolacije plućnih vena**

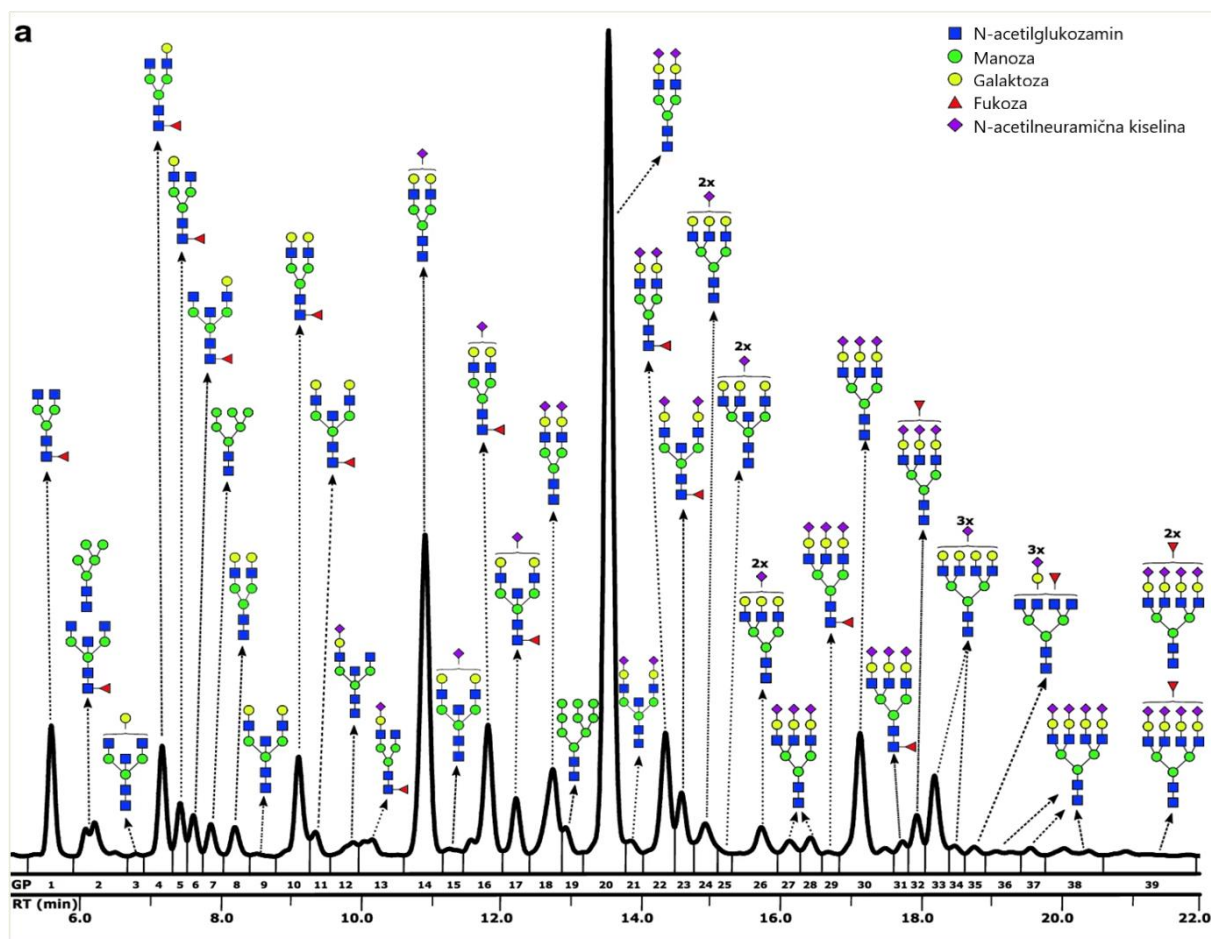
24-satni holter EKG nalazi svih 114 pacijenata analizirani su šest mjeseci nakon izolacije plućnih vena. Medijan broja trans-telefonskih EKG-a za kohortu bio je 47 s interkvartilnim rasponom od 35 - 59. 34 bolesnika (30 %) imalo je recidiv FA tijekom razdoblja praćenja. Recidiv je potvrđen trans-telefonskim EKG-om u 31 bolesnika i Holter EKG-om u samo 12 bolesnika. Kada su stratificirani prema tipu FA, bolesnici s perzistentnom FA imali su veću stopu recidiva (46 %) u usporedbi s bolesnicima s paroksizmalnom FA (23 %). Kada su stratificirani u dvije skupine prema prisutnosti fibroze LA, bolesnici s fibrozom lijevog atrija imali su stopu recidiva od 36 % (19 pacijenata), dok su pacijenti bez fibroze LA imali stopu recidiva od 23 % (14 pacijenata).

Primjeri profila plazme i IgG N-glikana prikazani su na slikama 5.1. i 5.2..



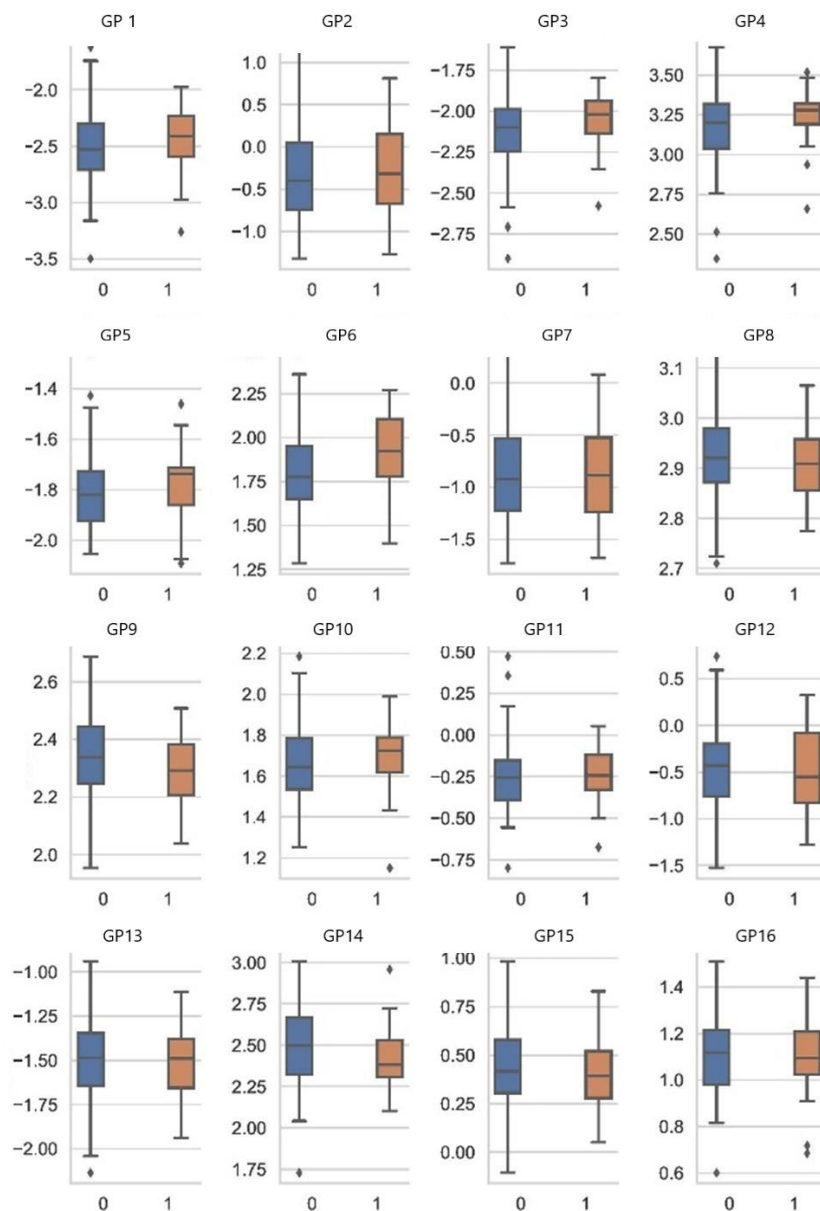
Slika 5.1. Kromatogrami iz IgG N-glikana - odvojena 24 vrha.



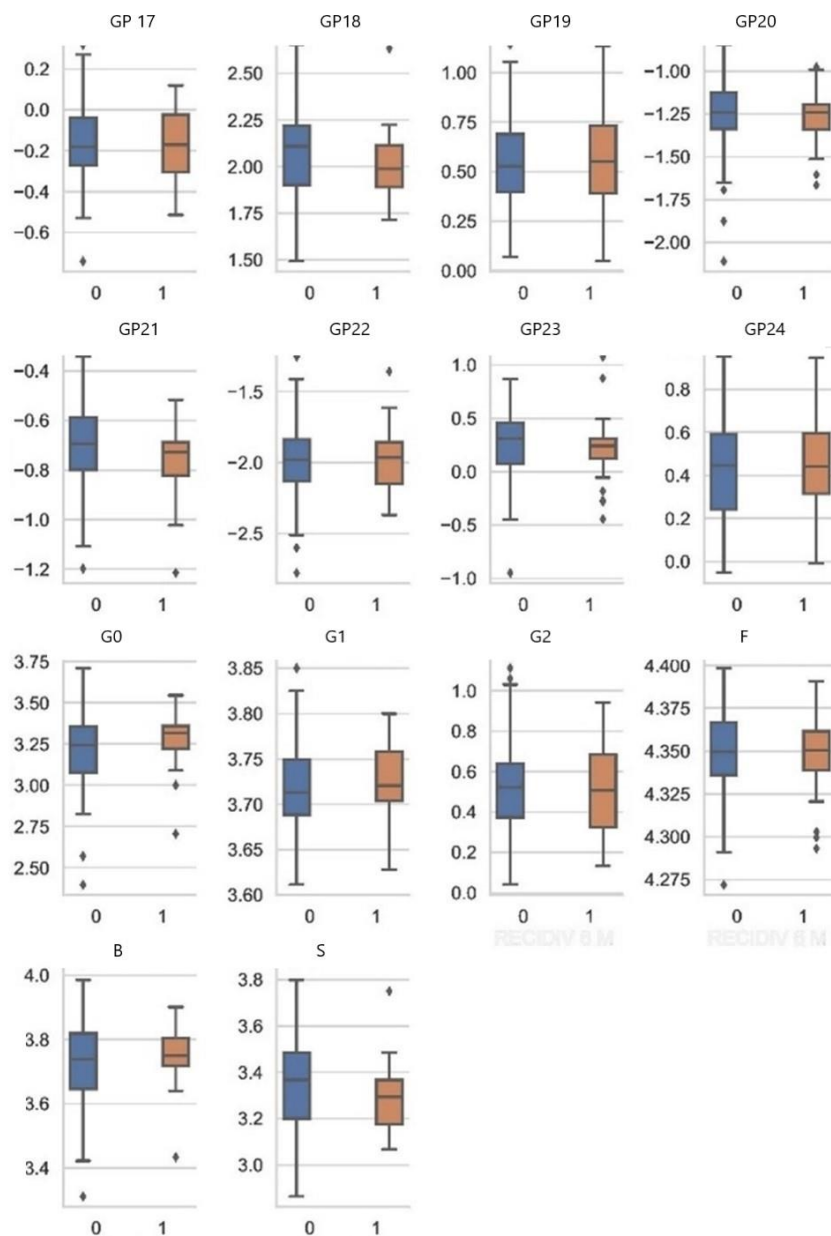


Slika 5.2. Kromatogrami iz plazma N-glikana - 39 razdvojenih vrhova

Iako su bolesnici s recidivom FA nakon izolacije plućnih vena imali proupalni oblik glikozilacije, nije pronađena statistički značajna razlika u sastavu IgG N-glikana u usporedbi s bolesnicima bez recidiva AF (Slike 5.3., 5.4. i Tablica 5.2.).



Slika 5.3. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju kromatografskih vrškova IgG N-glikoma (GP1 - GP16 od ukupno 24) u bolesnika bez (skupina 0) i s (skupina 1) recidivom FA. Donja i gornja granica dijagrama označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od  $1,5 \times$  međukvartila.

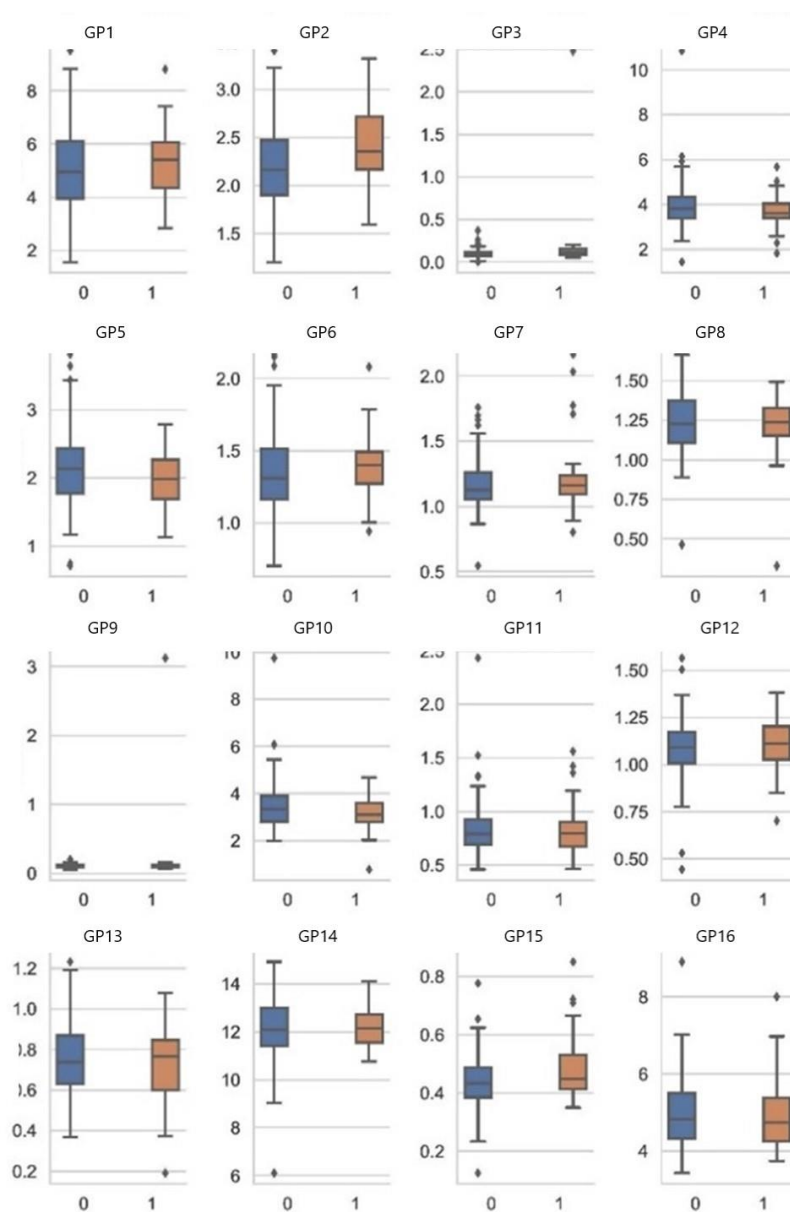


Slika 5.4. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova IgG N-glikoma (GP17 - GP24 i izvedene osobine) u bolesnika bez (skupina 0) i s (skupina 1) recidivom FA. Donja i gornja granica dijagrama označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila.

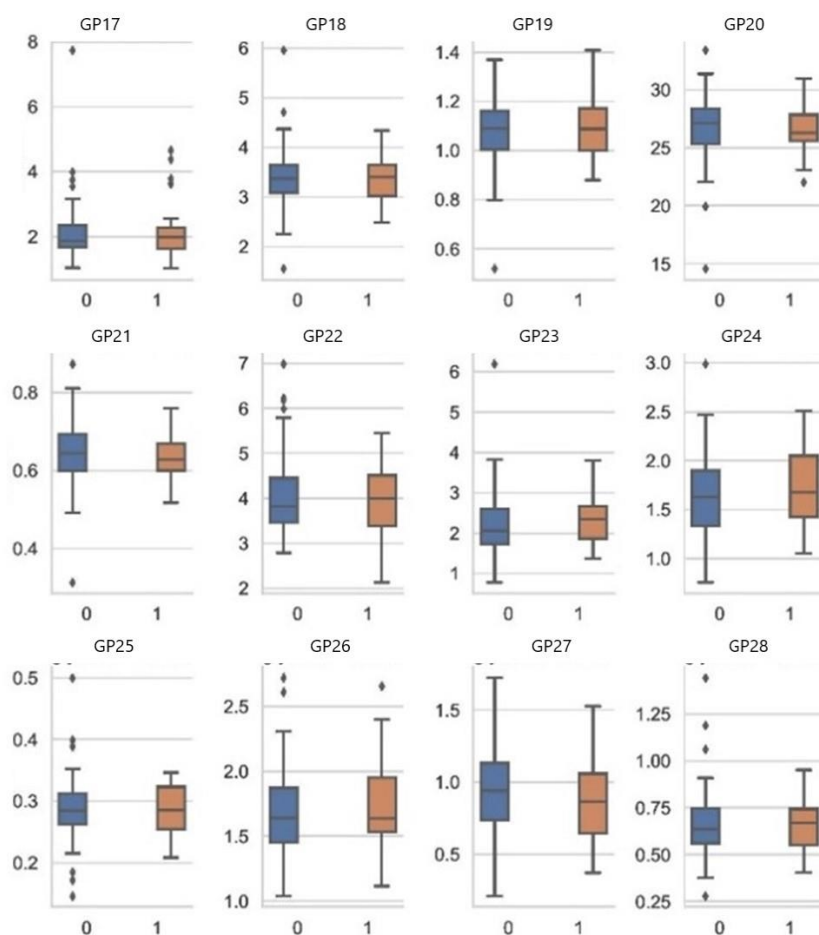
Tablica 5.2. Učinci, P-vrijednosti i prilagođene P-vrijednosti (fdr - Benjamini/Hochberg) za razlike u IgG N-glikanima između pacijenata s i bez recidiva FA (GP1 - GP24: 24 kromatografska vrha IgG N-glikana, G0, G1, G2, F, B, S: 6 izvedenih svojstava IgG N-glikana).

Glikan	Učinak	P-vrijednost	P-prilagođena (fdr-Benjamini/Hochberg)
GP1	0,05	0,45	0,86
GP2	0,06	0,64	0,95
GP3	0,04	0,33	0,83
GP4	0,04	0,32	0,83
GP5	0,01	0,77	0,95
GP6	0,08	0,10	0,44
GP7	0,01	0,89	0,96
GP8	-0,01	0,70	0,95
GP9	-0,03	0,35	0,83
GP10	0,03	0,43	0,86
GP11	0,01	0,74	0,95
GP12	0,00	0,96	0,99
GP13	-0,01	0,85	0,96
GP14	-0,04	0,39	0,86
GP15	-0,02	0,64	0,95
GP16	0,00	0,95	0,99
GP17	-0,01	0,75	0,95
GP18	-0,02	0,68	0,95
GP19	-0,01	0,88	0,96
GP20	-0,01	0,79	0,96
GP21	-0,06	0,08	0,40
GP22	0,01	0,87	0,96
GP23	-0,02	0,77	0,95
GP24	0,01	0,90	0,96
G0	0,05	0,21	0,72
G1	-0,01	0,53	0,95
G2	-0,04	0,41	0,86
F	0,00	0,70	0,95
B	0,03	0,22	0,73
S	-0,01	0,65	0,95

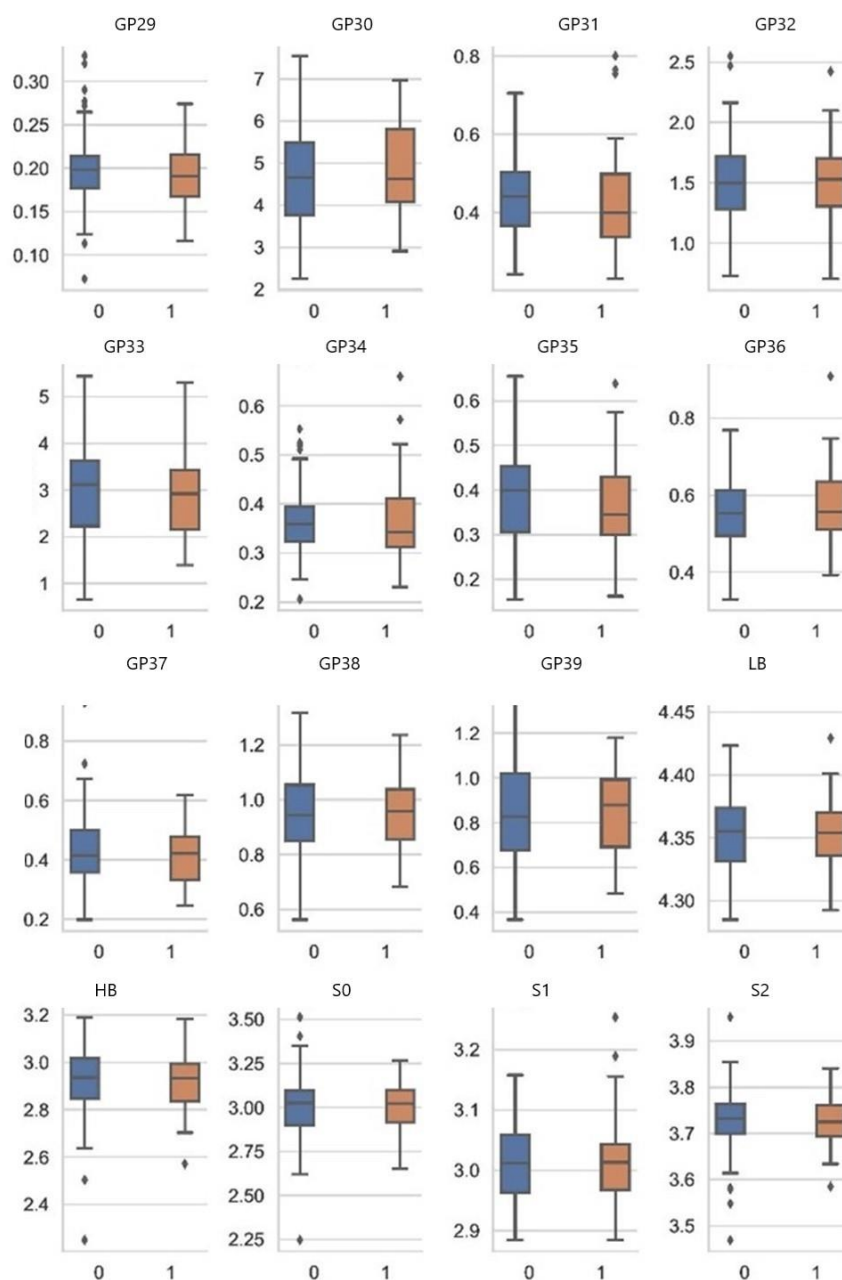
Postojala je nominalno značajna razlika u GP15 u plazmi između bolesnika s i bez recidiva FA nakon izolacije plućnih vena (Slike 5.5., 5.6., 5.7, 5.8 i Tablica 5.3.).



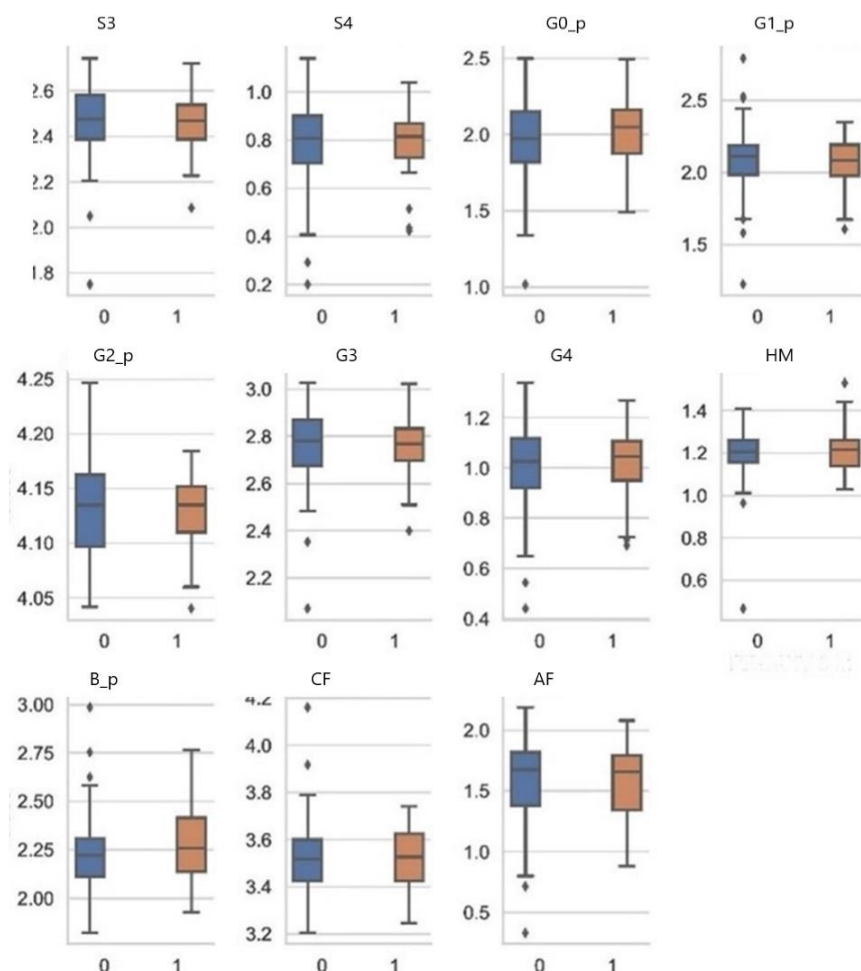
Slika 5.5. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (GP1 - GP16) u bolesnika bez (skupina 0) i s (skupina 1) recidivom FA. Granice dijagrama označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila.



Slika 5.6. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (GP17 - GP28) u bolesnika bez (skupina 0) i s (skupina 1) recidivom FA. Granice dijagrama označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila.



Slika 5.7. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (GP29 - 39 i izvedene osobine LB, HB, S0, S1 i S2) u bolesnika bez (skupina 0) i s (skupina 1) recidivom FA. Donja i gornja granica dijagrama okvira označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila.



Slika 5.8. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (izvedene osobine S3, S4, G0\_p, G1\_p, G2\_p, G3, G4, HM, B\_p, CF i AF) kod pacijenata bez (skupina 0) i s (skupina 1) recidivom FA. Donja i gornja granica dijagrama okvira označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila.



Tablica 5.3. Učinci, P-vrijednosti i prilagođene P-vrijednosti (fdr - Benjamini/Hochberg) za razlike u glikanima u plazmi između bolesnika s i bez recidiva FA nakon izolacije plućnih vena.

Glikan	Učinak	P-vrijednost	P-prilagođena (fdr - Benjamini/Hochberg)
GP1	0,15	0,63	0,99
GP2	0,16	0,09	0,99
GP3	0,09	0,07	0,99
GP4	-0,18	0,41	0,99
GP5	-0,12	0,28	0,99
GP6	0,06	0,36	0,99
GP7	0,07	0,15	0,99
GP8	-0,02	0,58	0,99
GP9	0,10	0,10	0,99
GP10	-0,25	0,24	0,99
GP11	0,00	0,99	0,99
GP12	0,01	0,72	0,99
GP13	-0,02	0,61	0,99
GP14	0,01	0,96	0,99
GP15	0,05	0,02	0,99
GP16	0,04	0,84	0,99
GP17	0,07	0,70	0,99
GP18	-0,08	0,49	0,99
GP19	0,03	0,26	0,99
GP20	-0,04	0,95	0,99
GP21	-0,01	0,45	0,99
GP22	-0,12	0,49	0,99
GP23	0,13	0,41	0,99
GP24	0,07	0,41	0,99
GP25	0,00	0,84	0,99
GP26	0,01	0,92	0,99
GP27	-0,04	0,54	0,99

(GP1-GP39: 39 kromatografskih vrhova N-glikana u plazmi, LB, HB, S0 , S1, S2, S3, S4, G0\_p, G1\_p, G2\_p, G3, G4, HM, B\_p, CF, AF: 16 izvedenih osobina plazma N-glikana).

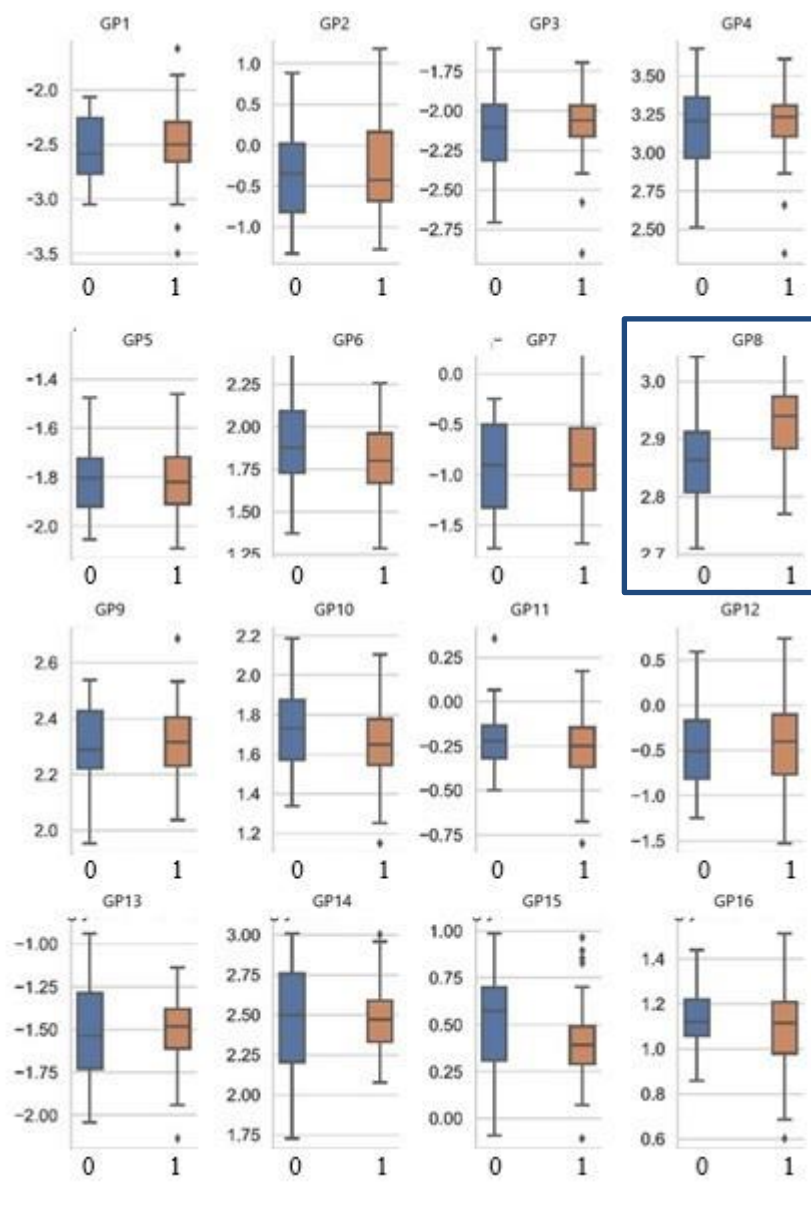
Tablica 5.3. Učinci, P-vrijednosti i prilagođene P-vrijednosti (fdr - Benjamini/Hochberg) za razlike u glikanima u plazmi između pacijenata sa i bez recidiva FA nakon izolacije plućnih vena (nastavak tablice s prethodne stranice).

Glikan	Učinak	P-vrijednost	P-prilagođena (fdr-Benjamini/Hochberg )
GP28	-0,01	0,85	0,99
GP29	-0,01	0,17	0,99
GP30	0,00	0,99	0,99
GP31	-0,02	0,53	0,99
GP32	-0,01	0,87	0,99
GP33	-0,04	0,84	0,99
GP34	-0,01	0,71	0,99
GP35	-0,01	0,55	0,99
GP36	0,02	0,39	0,99
GP37	-0,03	0,20	0,99
GP38	-0,02	0,51	0,99
GP39	0,01	0,82	0,99
LB	0,00	0,97	0,99
HB	0,00	0,96	0,99
S0	0,01	0,88	0,99
S1	0,01	0,65	0,99
S2	0,00	0,92	0,99
S3	0,00	0,91	0,99
S4	-0,01	0,77	0,99
G0_p	0,05	0,32	0,99
G1_p	-0,01	0,82	0,99
G2_p	0,00	0,86	0,99
G3	0,00	0,97	0,99
G4	0,00	0,95	0,99
HM	0,03	0,18	0,99
B_p	0,07	0,10	0,99
CF	0,00	0,97	0,99
AF	0,00	0,96	0,99

(GP1-GP39: 39 kromatografskih vrhova N-glikana u plazmi, LB, HB, S0 , S1, S2, S3, S4, G0\_p, G1\_p, G2\_p, G3, G4, HM, B\_p, CF, AF: 16 izvedenih osobina plazma N-glikana).

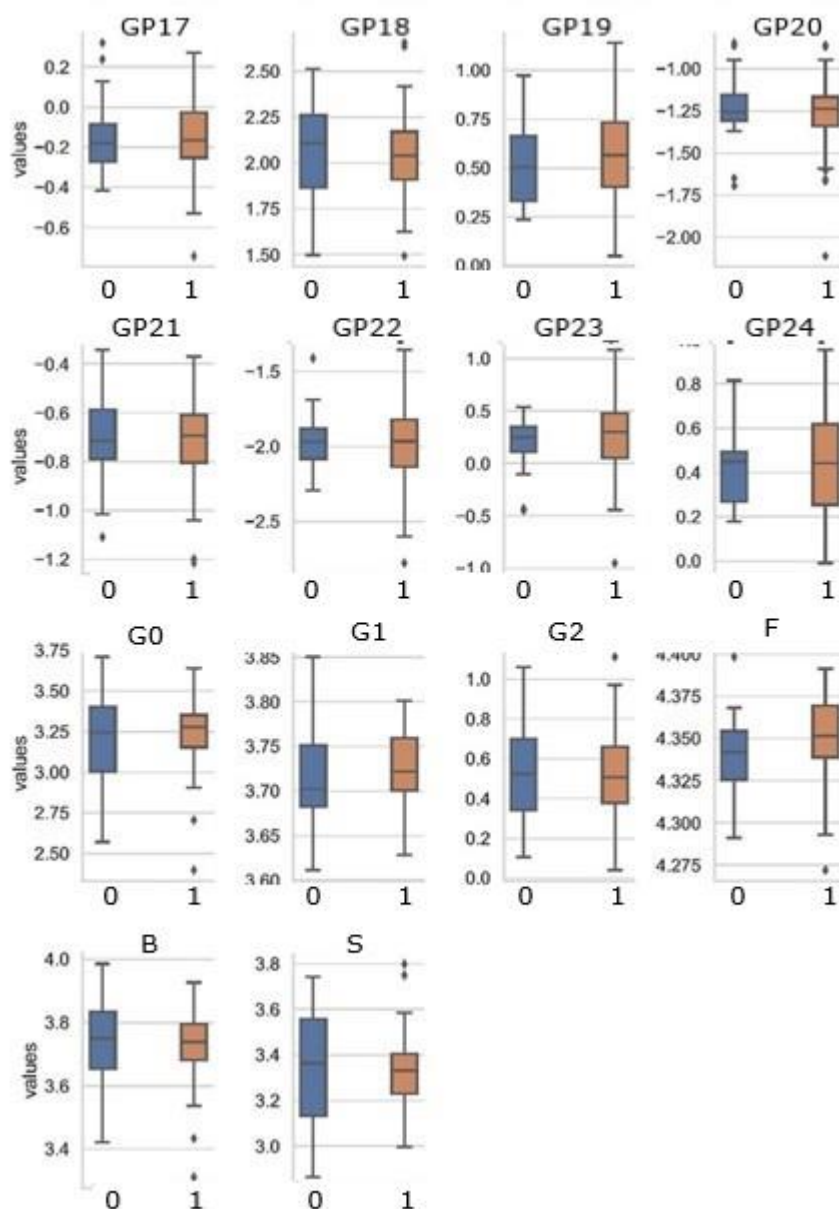
#### 5.4. Razlike u raspodjeli IgG N-glikana i N-glikana u plazmi između bolesnika si bez fibroze lijevog atrija

IgG vrh glikana GP8 (FA2[6]G1) bio je povećan u bolesnika s FA i fibrozom LA i ta je povezanost ostala statistički značajna nakon prilagodbe P-vrijednosti za višestruko testiranje ( $P < 0,01$ ). IgG GP6 kao i izvedene osobine G1 i B također su bili nominalno značajni (nominalna P-vrijednost  $< 0,05$ ) (Slike 5.9., 5.10. i Tablica 5.4.).



Slika 5.9. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova IgG N-glikoma (GP1 - 16) u bolesnika bez (skupina 0) i s (skupina 1) fibrozom LA (plavi pravokutnik pokazuje značajnu

razliku). Donja i gornja granica dijagrama označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od  $1,5*$  međukvartila.

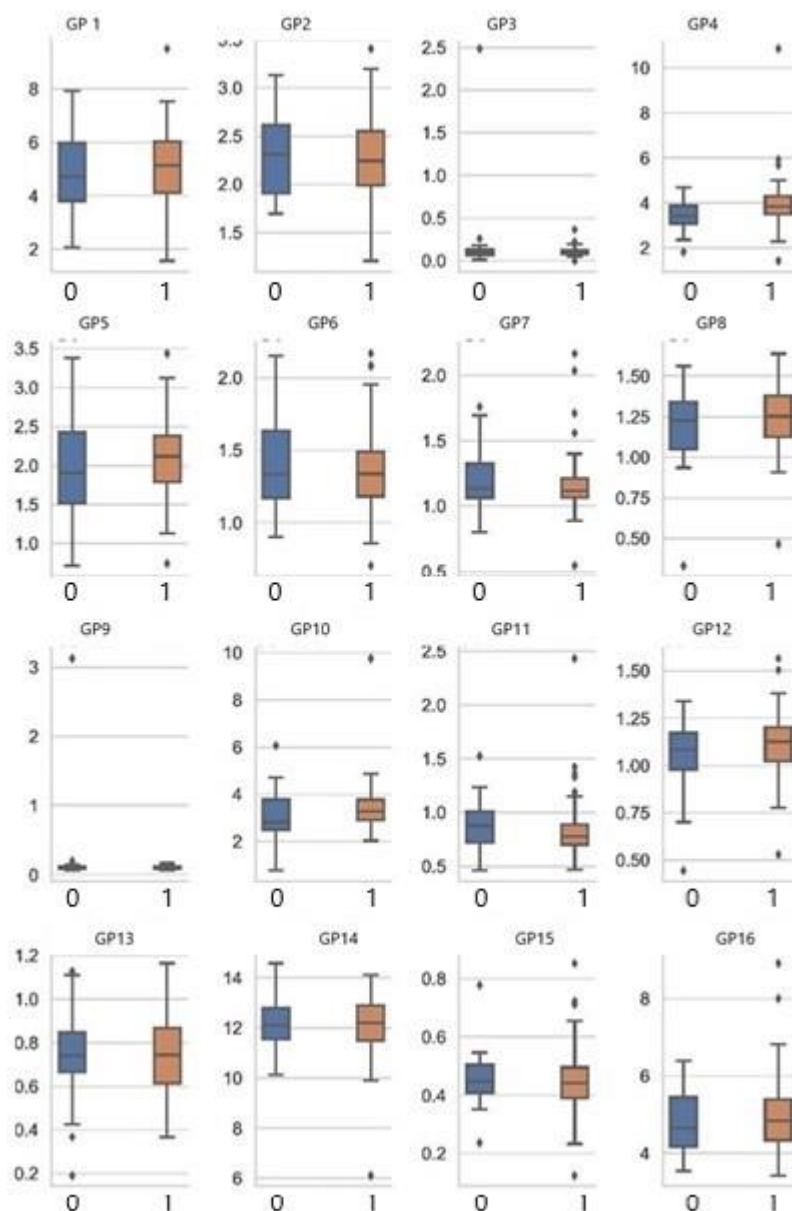


Slika 5.10. „Box“grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova IgG N-glikoma (GP17 - 24 i izvedene osobine) u bolesnika bez (skupina 0) i s (skupina 1) fibrozom LA. Donja i gornja granica dijagrama okvira označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od  $1,5*$  međukvartila.

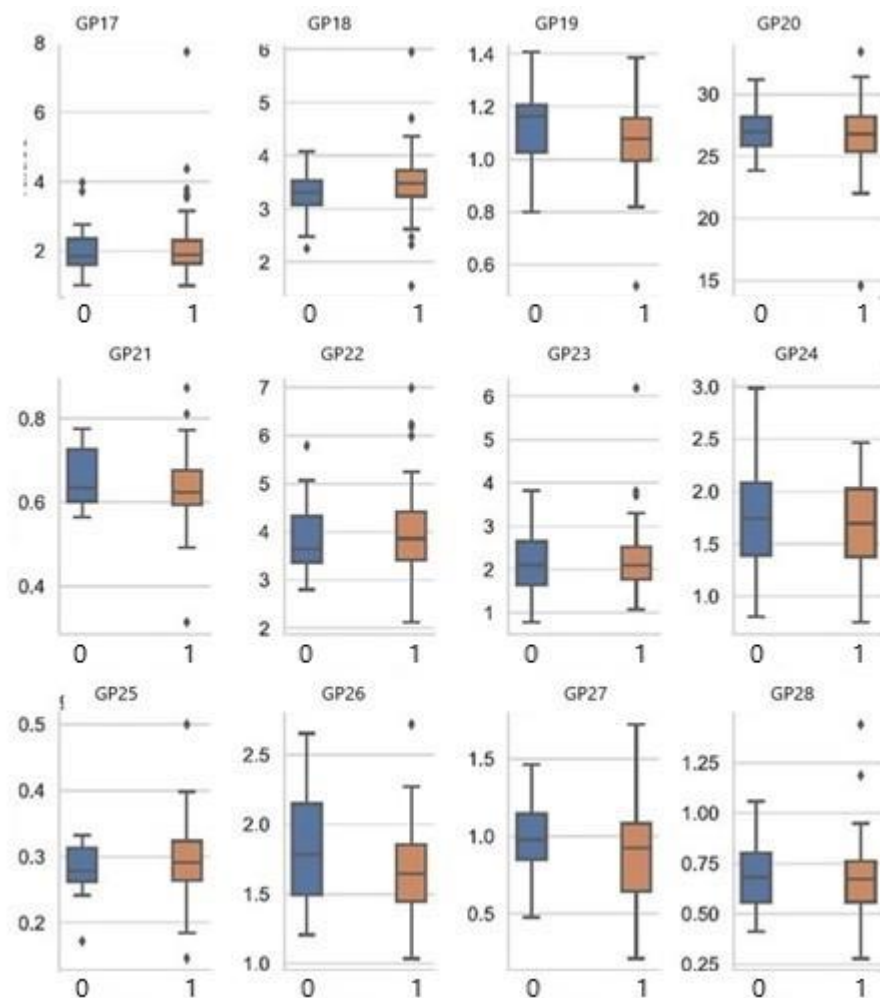
Tablica 5.4. Učinci, P-vrijednosti i prilagođene P-vrijednosti (fdr - Benjamini/Hochberg) za razlike u IgG N-glikanima između pacijenata s i bez fibroze LA (GP1 - GP24: kromatografski pikovi IgG N-glikana, G0, G1, G2, F, B, S: 6 izvedenih osobina).

Glikan	Učinak	P-vrijednost	P-prilagođena (fdr-Benjamini/Hochberg)
GP1	0,02	0,83	0,96
GP2	0,07	0,64	0,95
GP3	0,00	1,00	1,00
GP4	-0,01	0,85	0,96
GP5	-0,02	0,67	0,95
GP6	-0,11	0,04	0,33
GP7	0,05	0,64	0,95
GP8	0,07	< 0,01	0,01
GP9	0,03	0,34	0,83
GP10	-0,06	0,17	0,65
GP11	-0,07	0,10	0,44
GP12	0,06	0,63	0,95
GP13	0,01	0,87	0,96
GP14	0,04	0,41	0,86
GP15	-0,06	0,26	0,80
GP16	-0,02	0,66	0,95
GP17	-0,01	0,82	0,96
GP18	0,02	0,74	0,95
GP19	0,03	0,62	0,95
GP20	-0,03	0,54	0,95
GP21	0,00	1,00	1,00
GP22	-0,01	0,90	0,96
GP23	0,08	0,35	0,83
GP24	0,00	0,96	0,99
G0	-0,03	0,50	0,94
G1	0,03	0,02	0,19
G2	0,03	0,53	0,95
F	0,00	0,87	0,96
B	-0,07	0,04	0,32
S	0,01	0,76	0,95

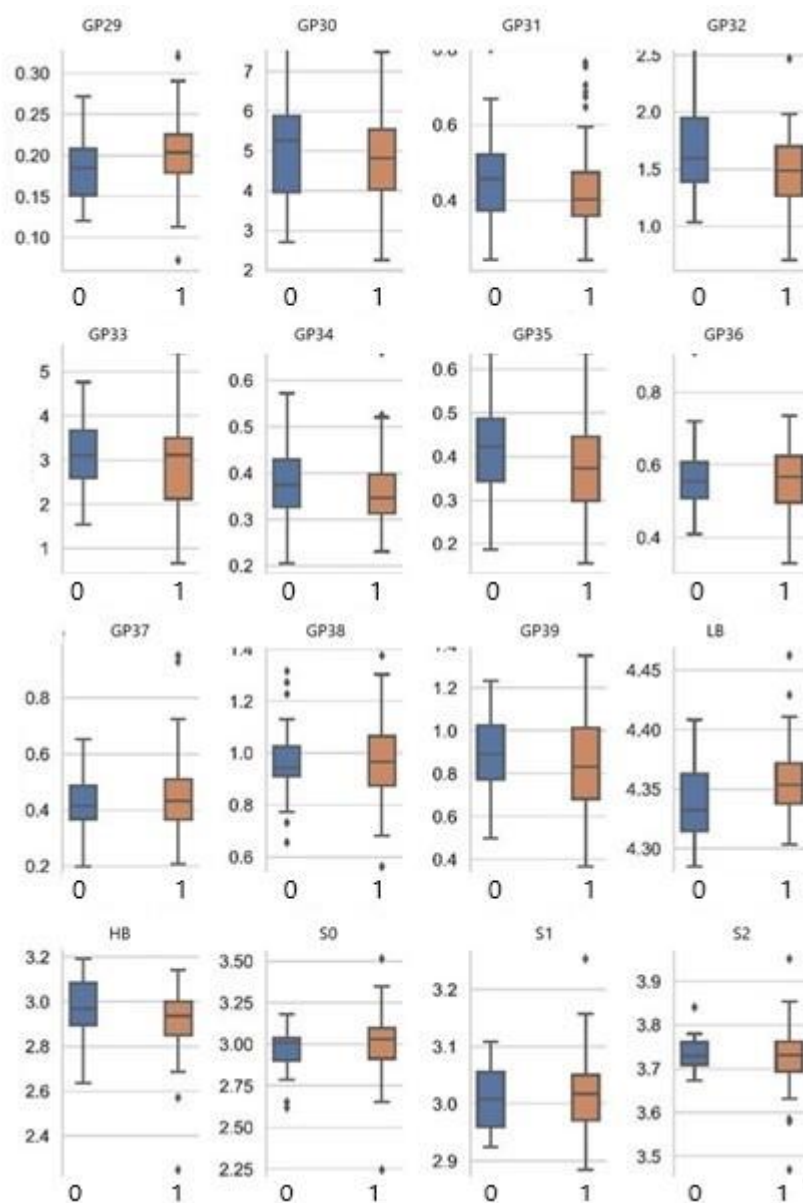
Došlo je do nominalno značajnog porasta biantenarskih struktura N-glikana u plazmi i smanjenja trizijaliranih triantenarnih struktura (GP26 i GP32) u bolesnika s fibrozom LA u usporedbi s pacijentima bez fibroze (slike 5.11., 5.12., 5.13., 5.14. i Tablica 5.5.).



Slika 5.11. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (GP1 - 16) u bolesnika bez (skupina 0) i s (skupina 1) fibrozom LA. Donja i gornja granica dijagrama okvira označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila.

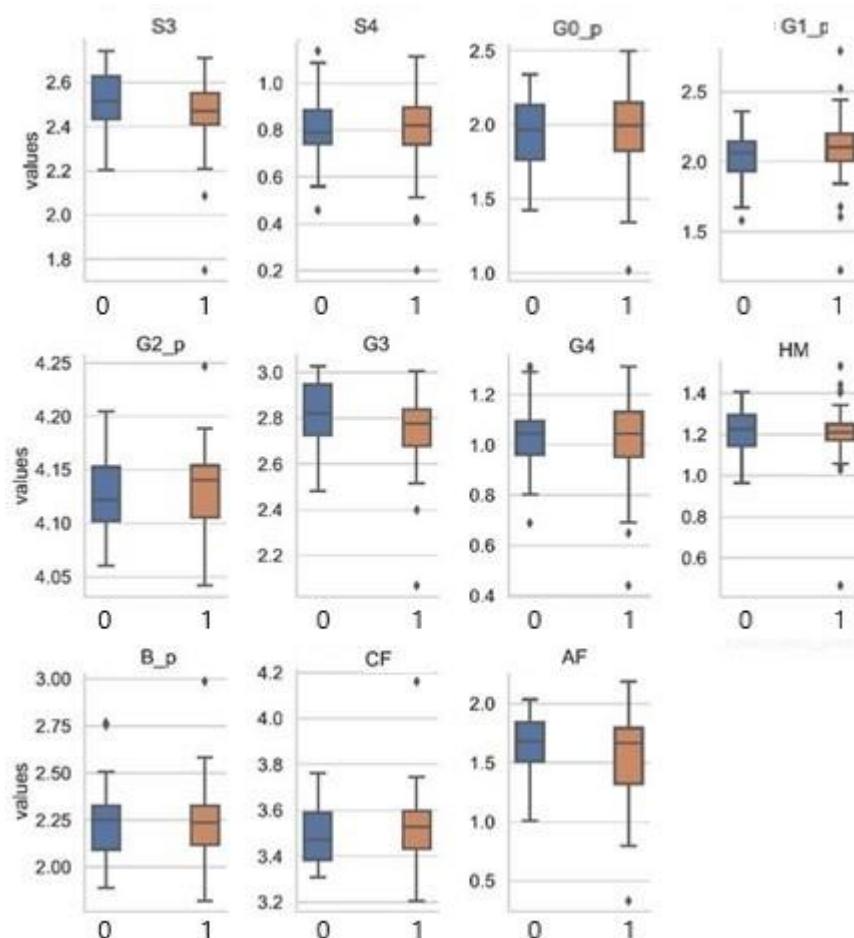


Slika 5.12. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (GP17 - 28) u bolesnika bez (skupina 0) i s (skupina 1) fibrozom LA. Donja i gornja granica dijagrama okvira označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od  $1,5 \times$  međukvartila.



Slika 5.13. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (GP29 - 39 i izvedene osobine LB, HB, S0, S1, S2) u bolesnika bez (skupina 0) i s (skupina 1) fibrozom lijevog atrija. Donja i gornja granica dijagrama okvira označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila.





Slika 5.14. „Box“ grafikoni koji prikazuju distribuciju vrhova N-glikoma u plazmi (izvedene osobine S3, S4, G0\_p, G1\_p, G2\_p, G3, G4, HM, B\_p, CF i AF) u bolesnika bez (skupina 0) i s fibrozom LA (skupina 1). Donja i gornja granica dijagrama okvira označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila.

Tablica 5.5. Učinci, P-vrijednosti i prilagođene P-vrijednosti (fdr-Benjamini/Hochberg) za razlike u glikanima u plazmi između pacijenata s i bez fibroze lijevog atrija (GP1 - GP24: od 39 kromatografskih vrhova N-glikana u plazmi).

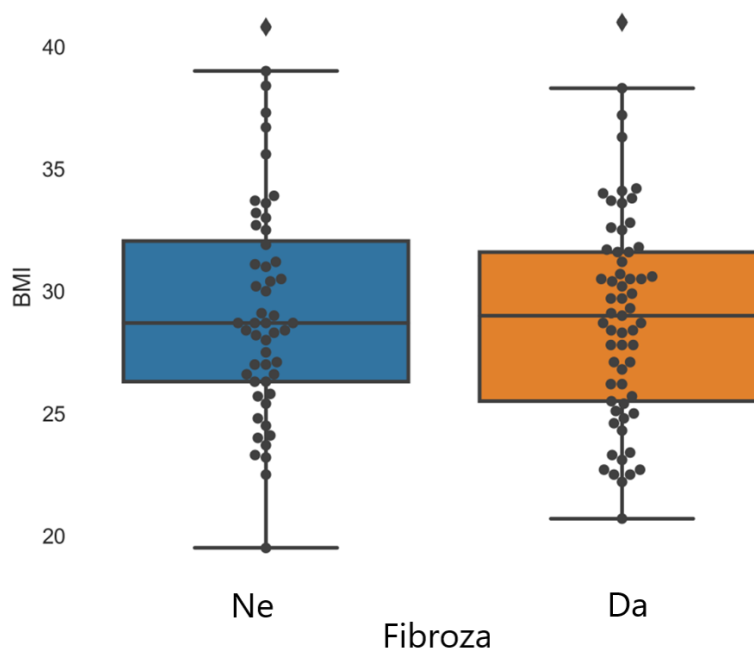
Glikan	Učinak	P-vrijednost	P-prilagođena (fdr-Benjamini/Hochberg)
GP1	0,16	0,65	0,82
GP2	-0,08	0,46	0,80
GP3	-0,09	0,17	0,51
GP4	0,56	0,03	0,48
GP5	0,18	0,17	0,51
GP6	0,00	0,96	0,98
GP7	-0,04	0,54	0,82
GP8	0,06	0,23	0,53
GP9	-0,13	0,11	0,51
GP10	0,41	0,11	0,51
GP11	-0,03	0,70	0,82
GP12	0,06	0,19	0,52
GP13	0,02	0,69	0,82
GP14	-0,11	0,70	0,82
GP15	0,00	0,90	0,97
GP16	0,28	0,22	0,52
GP17	0,01	0,96	0,98
GP18	0,20	0,15	0,51
GP19	-0,03	0,41	0,80
GP20	-0,31	0,64	0,82
GP21	-0,3	0,20	0,52
GP22	0,7	0,44	0,80
GP23	0,06	0,76	0,86
GP24	-0,15	0,16	0,51

Tablica 5.5. Učinci, P-vrijednosti i prilagođene P-vrijednosti (fdr-Benjamini/Hochberg) za razlike u glikanima u plazmi između pacijenata s i bez fibroze LA za glikane: GP25 - GP39, LB, HB, S0, S1, S2, S3, S4, G0\_p, G1\_p, G2\_p, G3, G4, HM, B\_p, CF, AF (nastavak tablice s prethodne stranice).

Glikan	Učinak	P-vrijednost	P-prilagođena (fdr-Benjamini/Hochberg)
GP25	0,01	0,42	0,80
GP26	-0,24	< 0,01	0,11
GP27	-0,04	0,61	0,82
GP28	-0,01	0,77	0,86
GP29	0,02	0,14	0,51
GP30	-0,34	0,21	0,52
GP31	-0,05	0,13	0,51
GP32	-0,26	< 0,01	0,11
GP33	-0,06	0,81	0,89
GP34	-0,03	0,08	0,51
GP35	-0,02	0,40	0,80
GP36	-0,04	0,06	0,51
GP37	0,01	0,70	0,82
GP38	-0,02	0,55	0,82
GP39	-0,04	0,49	0,82
LB	0,02	0,02	0,41
HB	-0,06	0,08	0,51
S0	0,05	0,27	0,59
S1	0,01	0,58	0,82
S2	-0,01	0,56	0,82
S3	-0,06	0,10	0,51
S4	-0,02	0,66	0,82
G0_p	0,01	0,93	0,98
G1_p	0,08	0,12	0,51
G2_p	0,01	0,31	0,65
G3	-0,07	0,06	0,51
G4	-0,03	0,47	0,80
HM	0,00	0,99	0,99
B_p	-0,02	0,69	0,82
CF	0,05	0,19	0,52
AF	-0,05	0,56	0,82

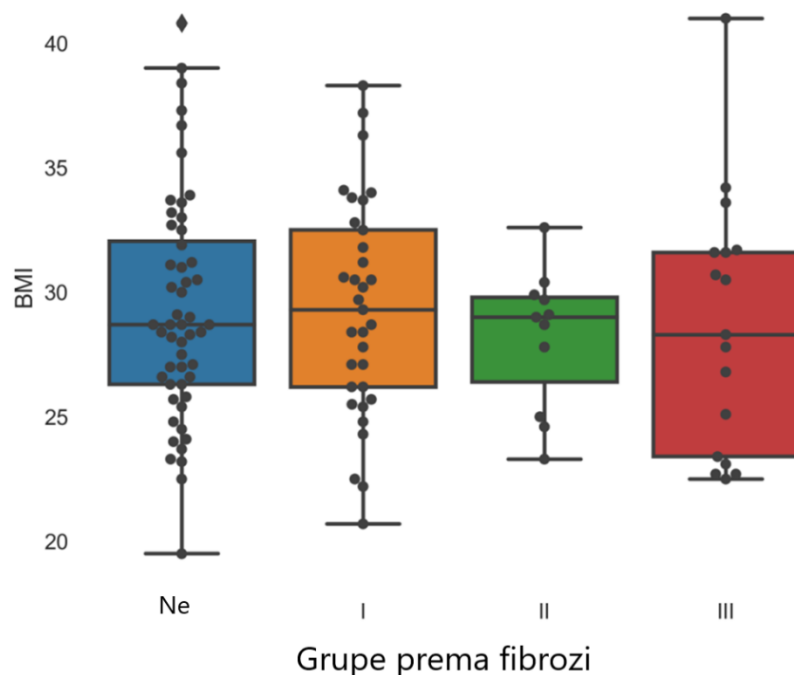
### 5.5. Povezanost fibroze lijevog atrija i indeksa tjelesne mase

U ispitivanoj kohorti samo je 18 % pacijenata imalo normalnu težinu, dok je 41 % imalo prekomjernu tjelesnu težinu, a 41 % je bilo pretilo. Stoga smo nastavili procjenjivati postoji li povezanost između BMI i značajne fibroze lijevog atrija (Slika 5.15.). Aritmetička sredina vrijednosti BMI bila je 29,3 kg/m<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 4,5 kg/m<sup>2</sup> u skupini bolesnika bez značajne fibroze i 28,9 kg/m<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 4,3 kg/m<sup>2</sup> u skupini bolesnika sa značajnom fibrozom. Nakon prilagodbe za spol, dob, perzistentnu FA, dijabetes i hipertenziju, otkrili smo da nijedna povezanost nije statistički značajna (P = 0,84).



Slika 5.15. „Box“ grafikon koji prikazuje distribuciju BMI u bolesnika stratificiranih prema prisutnosti značajne fibroze LA u dvije skupine: 'Ne' – skupina pacijenata bez fibroze; 'Da' - skupina pacijenata s fibrozom. Donja i gornja granica dijagrama okvira označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila. Dobiveno i revidirano iz (21) uz dopuštenje autora.

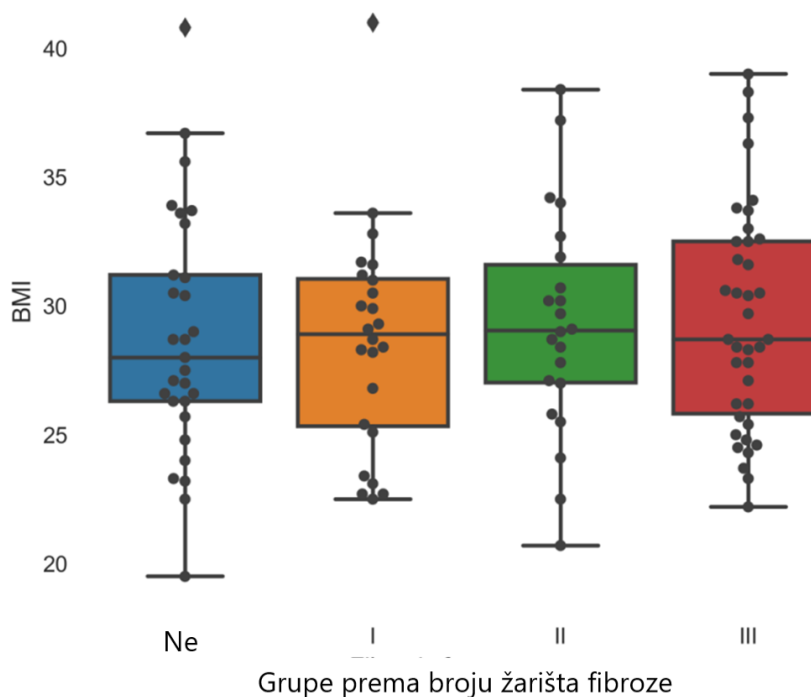
Povezanost između BMI i fibroze LA dodatno je procijenjena stratifikacijom pacijenata u četiri skupine na temelju postotka fibroznog područja: 'Ne' za < 5 % fibroznog područja, 'I' za 5 – 20 % fibroznog područja, 'II' za 20 – 35 % fibroznog područja i 'III' za  $\geq$  35 % fibroze. Aritmetičke sredine vrijednosti BMI u ove četiri skupine bile su 29,2 kg/m<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 4,5 kg/m<sup>2</sup>, 29,3 kg/m<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 4,4 kg/m<sup>2</sup>, 28,2 kg/m<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 2,8 kg/m<sup>2</sup> i 28,7 kg/m<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 5,2 kg/m<sup>2</sup> (Slika 5.16.). Nakon prilagodbe za spol, dob, perzistentnu FA, dijabetes i hipertenziju, BMI se nije značajno razlikovao između skupina (P = 0,57).



Slika 5.16. „Box“ grafikon koji prikazuje distribuciju BMI u bolesnika stratificiranih prema različitim postotcima fibroznog područja u četiri skupine: 'Ne' – skupina pacijenata s < 5 % fibroze LA; 'I' – skupina bolesnika s 5 – 20 % fibroze LA; 'II' – skupina bolesnika s 20 – 35 % fibroze LA; 'III' – skupina bolesnika s  $\geq$  35 % fibroze LA. Donja i gornja granica dijagrama okvira označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve

podatkovne točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila. Dobiveno i revidirano iz (21) uz dopuštenje autora.

Slično, nije bilo povezanosti između BMI i broja fibroznih područja u četiri skupine pacijenata: 'ne' pacijenti bez fibroze, 'I' za jedno fibrozno područje, 'II' za dva i 'III' za tri i više fibroznih područja (slika 5.17.). Aritmetičke sredine vrijednosti BMI u skupini 'Ne', skupini 'I', skupini 'II' i skupini 'III' bile su 28,8 kg/m<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 4,7 kg/m<sup>2</sup>, 28,6 kg/m<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 4,3 kg/m<sup>2</sup>, 29,3 kg/m<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 4,4 kg/m<sup>2</sup> i 29,5 kg/m<sup>2</sup> uz standardnu devijaciju 4,4 kg/m<sup>2</sup> (P = 0,64).



Slika 5.17. „Box“ grafikon koji prikazuje raspodjelu BMI u bolesnika stratificiranih prema broju fibroznih područja u četiri skupine: 'Ne' – skupina pacijenata bez fibroze; 'I' – skupina pacijenata s jednim fibroznim područjem; 'II' – skupina bolesnika s dva područja fibroze; „III“ – skupina bolesnika s tri i više područja fibroze. Donja i gornja granica dijagrama okvira označavaju 1. i 3. kvartil, srednji usjek označava medijan, a brkovi uključuju sve podatkovne

točke koje spadaju u raspon od 1,5\* međukvartila. Dobiveno i revidirano iz (21) uz dopuštenje autora.

Unutar ove skupine samo je 21 pacijent (18 %) imao normalan BMI, ali unutar ove podskupine, 14 pacijenata (67 %) imalo je fibrozu lijevog atrija, od kojih je 7 pacijenata (50 %) imalo difuznu uznapredovalu fibrozu koja pokriva većinu LA. Medijan CHA2DS2-VASc bodova bio je 2,5 u ovoj skupini bolesnika s interkvartilnim rasponom od 2 do 3. Četiri bolesnika (29 %) imalo je perzistentnu FA, sedam bolesnika (50 %) je imalo difuznu fibrozu lijevog atrija, a 9 bolesnika (64 %) imalo je arterijsku hipertenziju.

## 6. RASPRAVA

Primarni rezultat ovog istraživanja jest taj da ne postoji statistički značajna povezanost između specifičnih svojstava glikozilacije N-glikana imunoglobulina G i recidiva FA nakon izolacije plućnih vena, iako su pacijenti s recidivom FA imali više proupalni oblik glikozilacije. Međutim, određena ograničenja ove studije mogla su utjecati na rezultate. Unatoč primjeni novih ablacijskih protokola korištenjem katetera kontaktne sile i indeksa ablacije za osiguranje formiranja transmuralnih lezija, ponovno povezivanje plućnih vena još uvijek je vidljivo u oko 10 – 20 % pacijenata i odgovorno za recidiv FA. Stoga je značajan dio pacijenata bez proupalnog mehanizma mogao imati recidiv FA zbog neučinkovitog postupka ablacije. Ipak, pacijenti s recidivom FA u ovom istraživanju imali su proupalni IgG N-glikom (koji nije postigao statističku značajnost), što sugerira da bi uključivanje više pacijenata u istraživanje moglo dovesti do različitih rezultata.

Iako je protokol ablacije korišten u ovom istraživanju rezultirao značajnim udjelom recidiva FA, vjerujemo da je to bio najbolji mogući alat za ablaciju u svrhu studije i jedna od prednosti studije. Radiofrekventna ablacija „točku po točku“ s indeksom ablacije i CLOSE protokolom ima nižu stopu recidiva FA u usporedbi s drugim tehnikama RF ablacije (82, 88). Neke studije sugerirale su bolje rezultate krioablacije od standardnih tehnika RF ablacije. Multicentrično, randomizirano ispitivanje uspoređivalo je učinkovitost i sigurnost RF i krioablacije u izolaciji plućnih vena kod bolesnika s FA (89). Nakon randomizacije, 378 bolesnika podvrgnuto je krio-balonskoj ablaciji, dok je 384 bolesnika podvrgnuto radiofrekventnoj ablaciji s prosječnim praćenjem od godinu i pol. Nije bilo značajne razlike ni u primarnom ishodu učinkovitosti (recidiv FA, uporaba antiaritmičkih lijekova ili ponavljanje postupka) niti u primarnom ishodu sigurnosti između dvije vrste ablacije.

Druga studija analizirala je samo pacijente iz studije FIRE i ICE koji su podvrgnuti ponovljenom postupku ablacije (36 nakon ablacije krio-balonom i 53 nakon RF ablacije).



Rezultati su pokazali značajno veći broj rekonekcija plućnih vena u skupini koja je podvrgnuta radiofrekventnoj ablaciji u usporedbi s grupom krio-balonske ablacije (aritmetička sredina 2,1 uz standardnu devijaciju 1,4 naspram aritmetičke sredine 1,4 uz standardnu devijaciju 1,1,  $P = 0,010$ ) kao i veći broj dodatnih ablacijskih lezija potrebnih za postizanje ponovne izolacije vena u skupini RF ablacije (91). Međutim, nedavna meta-analiza koja je ispitivala podatke od 1284 bolesnika uključena u četiri randomizirana kontrolirana ispitivanja koja su uspoređivala dvije metode ablacije nije pronašla razliku u primarnoj krajnjoj točki učinkovitosti (92). Nije bilo značajne razlike slobodi od FA tijekom jednogodišnjeg praćenja (OR: 1,13; 95 % CI: 0,72 do 1,77). Nema čvrstih dokaza o boljim kliničkim ishodima izolacije plućnih vena nakon ablacije krio-balonom. RF ablacija sa sustavom 3D mapiranja jedina je tehnika ablacije koja daje dodatne informacije o mogućem temeljnom patološkom supstratu u lijevom atriju opisanom niskonaponskim zonama na elektroanatomskoj voltažnoj mapi.

Još jedan čimbenik koji je mogao utjecati na rezultate je otkrivanje recidiva FA. Prepoznavanje recidiva FA od strane pacijenata ima nisku točnost. Studije koje su ispitivale pacijente s FA i implantabilnim srčanim monitorom (ISM) dokazale su da je iznenađujuće velik dio (45 %) pacijenata imao asimptomatsku FA (93). U studiji DISCER AF, istraživači su pratili epizode FA s ISM-om u 50 pacijenata 3 mjeseca prije i 18 mjeseci nakon izolacije plućnih vena. Rezultati su pokazali značajno smanjenje opterećenja fibrilacijom atrija. 56 % epizoda FA koje je zabilježio ISM bilo je asimptomatsko, sa značajnim porastom omjera prema simptomatskim epizodama. Istraživači su otkrili da prepoznavanje epizoda FA nakon ablacije podcjenjuje recidiv FA za 12 % te da je sam postupak ablacije rezultirao asimptomatskim epizodama FA (94). Rezultati druge studije koja je ispitivala recidiv FA nakon izolacije plućnih vena sa 7-dnevnim holter EKG-om prije i 0, 3, 6 i 12 mjeseci nakon ablacije potvrdili su ove rezultate. Postojao je značajno veći udio asimptomatskih epizoda FA nakon ablacije nego prije ablacije (5 % prije i 37 % nakon ablacije) (95). Iako je zlatni standard i najtočnija metoda za otkrivanje

recidiva FA, ISM je invazivan za pacijente i skup za rutinsku primjenu u svih pacijenata nakon ablacije. 7-dnevni holter EKG, koji vjerojatno najmanje podcjenjuje recidiv FA, skup je, neugodan za pacijente i često rezultira nesuradnjom pacijenata. U našem istraživanju koristili smo se trans-telefonskim EKG snimkama uz 24-satni holter EKG i samoprijavljivanje događaja. Pacijenti su upućeni da bilježe rutinske EKG-e u dvodnevnim intervalima i dodatne EKG-e u slučaju simptomatskih događaja. Senatore i sur. su pokazali da je u otkrivanju recidiva FA nakon izolacije plućnih vena, dnevni trans-telefonski EKG bio bolji od 24-satnog holter EKG-a (27,8 % naspram 13,9 %,  $p = 0,001$ ) (96). Korištenje trans-telefonskog praćenja EKG-a uz samo-prijavljivanje i 24-satnog holter EKG-a smanjilo je rezultate učinkovitosti ablacije s 86 % na 72 % pacijenata bez recidiva FA nakon šest mjeseci praćenja. Najmanje jedna asimptomatska epizoda FA pojavila se u 50 % bolesnika. Naša studija dala je slične rezultate. Koristeći samo 24-satni holter EKG i samoprijavljivanje, otkrili smo 25 bolesnika (22 %) s recidivom. U daljnjih 8 bolesnika recidiv FA je otkriven samo trans-telefonskim EKG-om, što je iznosilo ukupno 33 bolesnika (29 %) s recidivom FA tijekom praćenja. Stoga je praćenje recidiva FA trans-telefonskim EKG-om bila jedna od prednosti ovog istraživanja, ali kako je navedeno u studijama koje su se koristile ISM-om tijekom praćenja, značajan postotak asimptomatskih epizoda FA vjerojatno je ostao neotkriven. Isto tako, studije pokazuju da se postotak pacijenata bez FA nakon ablacije dugoročno smanjuje. Pretpostavljamo da bi se u našoj skupini tijekom 12 ili 24-mjesečnog praćenja otkrilo više epizoda ponavljanja FA, što bi moglo značajno utjecati na rezultat. Relativno visok postotak recidiva FA u ovoj studiji mogao bi se objasniti karakteristikama pacijenata koji su neselektivno uključeni u studiju.

Svi bolesnici koji su ispunjavali uključne i isključne kriterije i koji su imali indikaciju za izolaciju plućnih vena, prema smjernicama Europskog kardiološkog društva, su uzastopno uključeni u ovo istraživanje. To je također bila jedna od prednosti studije jer je pružila uvid u stvarne rezultate u jednom centru. Bolesnici nisu odabrani na temelju vjerojatnosti uspjeha

ablacije. Aritmetička sredina dobi skupine bila je gotovo 62 godine, pri čemu su 65 % pacijenata bili muškarci, a 27 % bolesnika imalo je perzistentni tip FA. Medijan CHA2DS2-VASc rezultat od 2 pokazuje da su pacijenti u ovoj skupini imali veći rizik od cerebrovaskularnih incidenata zbog starije dobi i kardiovaskularnih komorbiditeta.

Drugi važan čimbenik koji je mogao utjecati na rezultate bio je BMI. Bolesnici s prekomjernom tjelesnom težinom, a posebno pretili, imaju visoku stopu recidiva FA nakon izolacije plućnih vena zbog različitih razloga osim fibroze lijevog atrija, o čemu će uskoro biti riječi. U ovoj kohorti izvijestili smo o samo 19 % bolesnika s normalnim BMI, dok je 40 % bolesnika imalo prekomjernu tjelesnu težinu, a 41 % bolesnika bilo je pretilo. Iako je 73 % bolesnika imalo paroksizmalni tip FA, otkrili smo da je 54 % svih pacijenata imalo značajnu fibrozu LA, najvažniji prediktor recidiva FA. Međutim, ponovljena je ablacija indicirana u samo 7 pacijenata (6 %) i izvedena u 6 pacijenata koji su pristali na drugi zahvat. Nedavno randomizirano kontrolirano ispitivanje RACE AF uključilo je 98 bolesnika s paroksizmalnom FA (97). Bolesnici su randomizirani na RF ablaciju ili ablaciju krio-balonom u omjeru 1 : 1, nakon čega su im ugrađivani srčani monitori te su praćeni tijekom 6 mjeseci. Nakon šest mjeseci svi bolesnici podvrgnuti su drugom postupku testiranja trajnosti prethodnih ablacijskih lezija elektro-anatomskim mapiranjem. Stopa ponovnog povezivanja plućnih vena bila je slična u obje skupine bolesnika (24 % u skupini koja je podvrgnuta RF ablaciji i 19 % u skupini koja je podvrgnuta krio-balon ablaciji, ns). Međutim, rezultati su pokazali da je čak 20 % bolesnika s trajnom izolacijom plućnih vena imalo recidiv FA tijekom 6-mjesečnog praćenja. Opterećenje FA se, međutim, dramatično smanjilo za više od 99 % u obje skupine. Autori sugeriraju da bi smanjenje opterećenja FA, a ne bilo koja epizoda ponavljanja FA, trebala biti krajnja točka pri ocjenjivanju učinkovitosti izolacije plućnih vena.

Sekundarni cilj ovog istraživanja bio je utvrditi postoji li povezanost između specifičnih svojstava glikozilacije IgG N-glikana i uznapredovale fibroze lijevog atrija. Rezultati su

pokazali nominalno statistički značajnu razliku u IgG GP6, GP8 i izvedenim IgG svojstvima G1 i B te u plazmi GP26, GP32 i izvedenom svojstvu LB. Nakon prilagodbe za višestruko testiranje, razlika u IgG GP8 ostala je statistički značajna. Ovi rezultati su prvi put pokazali da postoje razlike u glikozilaciji IgG između bolesnika s i bez fibroze lijevog atrija i FA, što čini doprinos velikom broju dokaza iz drugih studija o važnoj ulozi kroničnih upalnih procesa u razvoju i napredovanju FA. Buduće studije trebale bi imati cilj istražiti razlike u ovim specifičnim IgG i svojstvima plazme među odabranim pacijentima s FA i fibrozom lijevog atrija.

Fibroza LA je snažan prediktor progresije FA od paroksizmalnog do perzistentnog tipa, kao i recidiva FA nakon izolacije plućnih vena. Brojne studije pokazale su korelaciju između poznatih kardiovaskularnih čimbenika rizika (hipertenzija, dijabetes, starija dob, pretilost, OSA) i FA. Međutim, nije pronađena statistički značajna korelacija između ovih čimbenika rizika i prisutnosti fibroze lijevog atrija. Stoga je uveden novi entitet, idiopatska fibrotska atrijalna kardiomiopatija (FAKM).

Postoje dvije različite vrste fibroze miokarda. Reparativna fibroza posljedica je nekroze miokarda koja se razvija, na primjer, nakon infarkt miokarda. U tom procesu nekrotično tkivo miokarda zamjenjuje se fibroznim ožiljnim tkivom. Histopatološke studije opisale su drugačiji, reaktivni tip fibroze u bolesnika s FA. Formiranje reaktivne fibroze uključuje povećanu proizvodnju i odlaganje proteina ekstra staničnog matriksa uključujući kolagen oko srčanih stanica i žila koje ostaju netaknute. To rezultira remodeliranjem miokarda, gubitkom funkcije atrija i proaritmickim stanjem. Budući da nije uzrokovana nekrozom miokarda i zamjenom stanica miokarda homogenim ožiljnim tkivom, već intersticijskom interpolacijom fibroznog tkiva, rezultat je usporavanje i fragmentacija električne provodljivosti unutar lijevog atrija koja može inicirati i perpetuirati FA. Istraživanja su pokazala da različite kardiovaskularne i druge bolesti i stanja induciraju reaktivnu fibrozu tlačnim i volumnim opterećenjem LA (98, 99).

U našoj kohorti pronađena je relativno visoka prevalencija fibroze LA (54 %). Moguća objašnjenja mogu se nalaziti u karakteristikama pacijenta, kao što je prethodno razmotreno u ovom poglavlju. Studije nisu potvrdile statistički značajnu prognostičku vrijednost bilo kojeg poznatog kardiovaskularnog rizika za nastanak fibroze lijevog atrija. Bolesnici u našem istraživanju imali su visoku prevalenciju hipertenzije, dijabetesa i pretilosti, odnosno bolesti i stanja koja obično uzrokuju tlačno i volumno preopterećenje lijevog atrija. Moguće ograničenje svih studija koje istražuju prognostičku vrijednost ovih komorbiditeta za FA su nehomogene skupine bolesnika s različitim stopama uspješnosti liječenja i složenim interakcijama između nekoliko čimbenika rizika. Naši rezultati potvrđuju rezultate prethodnih studija koje su utvrdile značajnu prevalenciju fibroze LA čak i u bolesnika s paroksizmalnom FA. Budući da su i razvoj atrijske fibroze i progresija FA od paroksizmalnog do perzistentnog tipa kontinuirani procesi, razumno je pretpostaviti da postoji značajna nedosljednost u prevalenciji osnovne bolesti LA između bolesnika s paroksizmalnom i perzistentnom FA. Rezultati našeg istraživanja su u skladu s novim dokazima o ograničenjima trenutačne "binarne" kliničke stratifikacije pacijenata na temelju tipa FA. U podstudiji randomizirane kontrolirane studije CIRCA-DOSE, istraživači su otkrili da klinički utemeljena klasifikacija FA ne predviđa niti recidive niti opterećenje FA nakon izolacije plućnih vena (100). Američko udruženje za srce također je predložilo pomak s kvalitativne (paroksizmalna i perzistentna) na kvantitativnu klasifikaciju opterećenja FA (udio vremena u FA, najduža epizoda i ukupan broj epizoda) (101).

Na rezultate našeg istraživanja mogli su utjecati i drugi mogući poznati i nepoznati čimbenici. Iako su svi bolesnici sa strukturnom srčanom bolešću isključeni iz studije, uključujući bolesnike sa zatajenjem srca s očuvanim EF (HFpEF), priznajemo moguću nedostatnu dijagnostiku ove bolesti u našoj istraživačkoj kohorti. Bolesnici sa simptomima zatajenja srca ili povišenim razinama BNP isključeni su iz studije. Standardna ehokardiografija, uključujući mjerenje strukture srca te sistoličku i dijastoličku funkciju, obavljena je u svih

bolesnika prije i nakon izolacije plućnih vena. Međutim, ovi parametri imaju nisku dijagnostičku osjetljivost na HFpEF. Nedavna konsenzus preporuka Udruge za zatajenje srca Europskog kardiološkog društva također je potvrdila koliko je dijagnosticiranje ove bolesti i dalje izazovno i predložilo pouzdaniji postupni dijagnostički pristup. S ovim dijagnostičkim postupkom možda bismo isključiti dodatne pacijente iz studije (102).

Visok udio bolesnika s prekomjernom tjelesnom težinom (41 %) i pretilih bolesnika (41 %) u našoj studiji mogao je utjecati na rezultate. Postoje jaki dokazi za povezanost između pretilosti i pojave FA kao i pojave recidiva nakon izolacije plućnih vena (26 - 29). Međutim, ne postoji studija koja bi istraživala razlike u prevalenciji fibroze LA između pretilih i pacijenata normalne tjelesne težine. Stoga, kako bismo odredili je li pretilost značajan čimbenik kod pacijenata s fibrozom LA, istražili smo postoji li povezanost s BMI. Prema našim saznanjima, ovo je bila prva studija koja je istraživala takve asocijacije kod ljudi. U studiji na životinjama, povećanje tjelesne težine nakon visokokalorične dijeta rezultiralo je progresivnim remodeliranjem LA s heterogenošću električne provodljivosti, povećanjem lijevog i desnog atrija i povećanim volumenom perikardijalnog masnog tkiva. Patohistološki nalazi pokazali su povećanu intersticijsku fibrozu i upalu (29). U našoj skupini pacijenata nije pronađena povezanost između prisutnosti i opsega fibroze LA i BMI. Ovi rezultati upućuju na to da su drugi patološki mehanizmi odgovorni za visoku prevalenciju i lošu prognozu FA u pretilih bolesnika i onih s prekomjernom tjelesnom težinom. Nekoliko čimbenika rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti povezanih s pretilošću kao što su hipertenzija, dijabetes i OSA imaju ulogu u progresiji FA u prvom redu tlačnim i volumnim preopterećenjem LA. Ehokardiografske studije pokazale su da je dijastolička disfunkcija snažno povezana s razvojem FA (30).

Nedavne studije su otkrile važnu ulogu masnog tkiva koje prekriva LA u patofiziologiji FA u pretilih bolesnika. Mogući mehanizmi uključuju interpolaciju masnog tkiva u stijenku miokarda i upalu uzrokovanu parakrinim i endokrinim medijatorima masnog tkiva. BMI je bio

jedini pokazatelj pretilosti korišten u ovoj studiji. Neka istraživanja su pokazala da bi drugi pokazatelji pretilosti, kao što su opseg struka, omjer struka i bokova i visceralno masno tkivo, kao i čista tjelesna masa, mogli biti osjetljiviji prediktori kardiovaskularnih rizika povezanih s pretilošću. Ove rezultate potvrdila je metaanaliza u kojoj se uspoređuju korelacije različitih indeksa pretilosti i (103). Iako je korelacija između BMI i količine epikardijalnog masnog tkiva (EMT) bila vrlo značajna, opseg struka i visceralno masno tkivo bili su čak i bolji prediktivni čimbenici. Buduća bi istraživanja, stoga, trebala uključivati i druge pokazatelje pretilosti. Ograničenje ovog istraživanja jest u tome da je povezanost između LA fibroze i BMI ispitivana samo među bolesnicima s FA, zbog čega se rezultati ne mogu ekstrapolirati na cijelu populaciju.

Vjerojatno postoje i drugi čimbenici koji nisu istraženi u ovoj studiji, a mogli su utjecati na rezultate, kao što je dnevna izloženost onečišćenju česticama. Dvije studije su pokazale da su pojava i progresija FA povezani s kratkotrajnom izloženošću povećanim koncentracijama finih čestica manjih od 2,5  $\mu\text{m}$  i 10  $\mu\text{m}$  u promjeru (104, 105). Nedavna multicentrična prospektivna studija provedena u Italiji istraživala je ovaj utjecaj kod 145 bolesnika s elektrostimulatorom srca, resinkronizacijskim elektrostimulatorom i/ili defibrilatorom srca (106). Svi bolesnici imali su sustave kućnog nadzora koji omogućavaju svakodnevno izvješćivanje o svim epizodama aritmije. Događaj FA definiran je kao opterećenje fibrilacijom atrijske u više od 0,5 % vremena dnevno. U ovu studiju uključeni su samo pacijenti koji žive unutar 20 kilometara od stanice za praćenje onečišćenja. Utvrđeno je da postoji statistički značajna povezanost između opterećenja FA i dnevne izloženosti povišenim koncentracijama obje čestice promjera manje od 2,5  $\mu\text{m}$  i 10  $\mu\text{m}$  (95 % CI od 1,34 - 2,40 odnosno 1,44 - 4,28).

Ova studija ima neka ograničenja u vezi s definicijom i kvantificiranjem fibroze LA. Postoji jaka korelacija između NVZ-a na EAVM i histoloških nalaza fibroze. Međutim, trenutačno korištene granične vrijednosti napona za fibrozu LA nisu u potpunosti znanstveno ispitane. U većini studija za definiranje uznapredovale fibroze LA obično se koristi proizvoljna

granična vrijednost od 0,5 mV, dok se umjerena fibroza definira s graničnim vrijednostima od 0,5 i 1,5 mV. U ovoj studiji smo istraživali samo povezanost između područja teške fibroze ( $\leq 0,5$  mV) i različitih svojstava glikozilacije. Područja umjerene fibroze (koja nisu analizirana u ovoj studiji) također mogu igrati važnu ulogu u nastanku i širenju aritmije. Točnost MR-a u otkrivanju područja fibroznog tkiva različitih veličina još uvijek je nejasna, iako je nedavna studija s detaljnom analizom dviju preklapanih mapa (MR i EAVM) pokazala visoku podudarnost (107).

EVAM, iako se smatra zlatnim standardom za otkrivanje područja teške fibroze LA, može dati nedosljedne rezultate. Studije su koristile različite katetere za izradu EAVM. Prve studije su koristile katetere bez senzora kontaktne sile što smanjuje točnost ove metode. U ovoj studiji korišteni su kateteri sa senzorom kontaktne sile pod strogo definiranim uvjetima prilikom uzimanja naponskih točaka. Sve točke su uzete u sinusnom ritmu nakon potvrde dobrog kontakta sa stijenkom LA ( $\geq 5$  g/mm<sup>2</sup>). Po pacijentu je uzeto više od 400 naponskih točaka s definiranim minimalnim razmakom između svake dvije točke. Međutim, multipolarni kateteri mogu brže prikupiti veći broj naponskih točaka od bipolarnih katetera, što rezultira EAVM-om visoke gustoće. Kada se koriste multipolarni kateteri, impedancijom tkiva određuje se adekvatan kontakt katetera sa stijenkom LA. Nedavna studija uspoređivala je dvije metode elektroanatomskog voltažnog mapiranja i zaključila da su u nekim područjima LA vrijednosti napona bile niže kada su korišteni bipolarni kateteri za razliku od multipolarnih katetera (108). Još uvijek nije jasno precjenjuje li bipolarno mapiranje napona opseg teške fibroze u LA. U ovoj studiji NVZ-e su pronađene u 76 % ispitanika, ali u 54 % ispitanika NVZ-e su prekrivale više od 5 % površine LA, što se smatra značajnom fibrozom. Ovaj prag je također proizvoljan i smatran je značajnim u većini prethodnih studija. Još uvijek nije jasno koliki udio fibroze u površini LA treba smatrati značajnim prediktorom početka FA i progresije u perzistentni tip. „Patchy“ i intersticijski tip fibroze smatraju se više proaritmogenim od gustog difuznog tipa.



Međutim, nema dokaza koji upućuju na to da bi broj fibroznih područja bio bolji prediktor recidiva FA nakon izolacije plućnih vena.

Većina studija istraživala je povezanost između promjena O-glikozilacije, odnosno promjena u O-GlcNAcilaciji, i kardiovaskularnih bolesti. Čini se da povišene koncentracije produkata O-GlcNAcilacije imaju zaštitnu ulogu u ishemiji i reperfuziji miokarda. Mogući mehanizmi uključuju smanjenje staničnog priljeva kalcija i promjene mitohondrijalnih proteina koje omogućuju otpornost stanica miokarda na oksidativni stres. Nekoliko studija otkrilo je povezanost između promjena O-GlcAN i kardiovaskularnih bolesti kao što su hipertrofija miokarda, zatajenje srca, arterijska hipertenzija i vaskularno remodeliranje (109, 110). Međutim, još uvijek nije jasno jesu li te promjene uzročne ili su samo posljedica temeljnih patofizioloških procesa. Ovi nalazi imaju i klinički potencijal. Proces O-glikozilacije otkriven je na sva tri tipa natriuretskih peptida, uključujući B-tip natriuretski peptid (BNP). Hansen i sur. sugerirali su da bi specifična O-glikozilacija natriuretskih peptida i njihovih receptora rezultirala aktivacijom i stabilnošću receptora, što bi poboljšalo terapijski učinak natriuretskih peptida s poznatim antifibrotičnim i antremodelirajućim učinkom (111).

Međutim, sve je više dokaza o važnoj ulozi promjena N-glikozilacije. Razlike u IgG N-glikomu povezane su sa stvaranjem aterosklerotskog plaka i regulacijom lipoproteina (53), procjenom rizika od kardiovaskularnih bolesti (ASCVD) (55) i aortalnom stenozom (56). Štoviše, N-glikani zajedno s O-glikanima imaju važnu ulogu u funkcioniranju ionskih kanala u stanicama miokarda. Schwetz i sur. otkrili su da N-glikani specifično moduliraju izoformu Kv1.5 naponskih K<sup>+</sup> kanala kod sisavaca (112). Izoforma kanala Kv1.5 odgovorna je za odgođenu ultra brzu struju ispravljača I Kur samo u ljudskom atrijskom miokardu, bez učinka na ventrikule ili Purkinje vlakna. Stoga su kanali izoforme Kv1.5 predloženi kao potencijalna meta za nove antiaritmičke lijekove (113). Nakon gore spomenutih nalaza o specifičnoj ulozi N-glikana u modulaciji izoforme kanala Kv1.5, kao potencijalna meta u kontroli FA predložena

je izmjena sialilacije ovih kanala. Na temelju rezultata prethodnih studija koje upućuju na jasnu povezanost između N-glikana i kardiovaskularnih bolesti, upalnih procesa i posebno modulacije ionskih kanala, razumno je pretpostaviti da bi N-glikozilacija mogla imati ulogu u pojavi i progresiji FA na uzročni način i/ili kao produkt drugih patofizioloških procesa. Međutim, ne postoje studije o povezanosti promjena glikozilacije i FA.

Naša je studija prva koja istražuje povezanost između N-glikoma IgG i plazme, fibroze lijevog atrija i terapijskog učinka izolacije plućnih vena u bolesnika s fibrilacijom atrija. Iako nismo pronašli statistički značajnu povezanost između N-glikoma i recidiva FA (ograničenja su prethodno raspravljana u ovom poglavlju), pacijenti s recidivom su pokazali više proupalni trend glikozilacije. Zbog mogućih kliničkih implikacija, potrebna su posebno osmišljena buduća istraživanja koja bi uključivala veći broj pacijenata s duljim i temeljitijim praćenjem i po mogućnosti preciznijim ishodom kao što je opterećenje FA.

Jedan od glavnih rezultata ove studije je statistički značajna razlika u IgG N-glikomu u bolesnika s i bez fibroze lijevog atrija, posebno za IgG glikan peak GP8 (FA2[6]G1).

IgG GP8 je monogalaktozilirana, dakle, proupalna struktura. Udio galaktoziliranih IgG osobina je stabilan u pojedinaca, ali značajno varira u populaciji. Također se može brzo promijeniti u slučaju bilo koje vrste akutne upale. Stoga su u istraživanje uključeni samo bolesnici s normalnim vrijednostima CRP-a i bez akutnog ili kroničnog tipa upalne bolesti. Čini se da galaktozilacija IgG igra ključnu, modulacijsku ulogu u upalnim procesima. IgG bez terminalne galaktoze djeluje kao proupalni modulator aktivacijom komplementa i preko lektinskog puta (114), dok je normalna galaktozilacija imunoloških kompleksa neophodna za protuupalno djelovanje. IgG GP8 također nema terminalnu sijaličnu kiselinu koja obično ima proupalni učinak budući da se sijalična kiselina smatra „prekidačem“ između protuupalne i proupalne aktivnosti IgG. Terminalna sijalinska kiselina modulira upalne procese aktiviranjem receptora tipa I (FcγRs), receptora tipa II (lektin) i komplementa (C1q) (50).

Nekoliko drugih IgG i plazmatskih vrhova glikana također su se nominalno razlikovali između dvije skupine pacijenata, ali statistička značajnost nije zadržana nakon prilagodbe za višestruko testiranje. Zbog složene i multifaktorske patogeneze FA, teško je ocrtati fibrozu LA kao jedini čimbenik napredovanja FA i neuspjeha terapije, ali za potrebe našeg istraživanja vjerojatno je to objektivniji parametar od vremenskog obrasca FA ili čak stupnja opterećenja FA. Ako bi se budućim istraživanjima potvrdio drugačiji obrazac N-glikozilacije u bolesnika s fibrozom LA, to bi imalo važne kliničke implikacije za liječenje FA.

Konačno, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se istražilo postoje li razlike u N-glikozilaciji između bolesnika s i bez FA.

## 7. ZAKLJUČAK

Nema statistički značajne povezanosti između N-glikana imunoglobulina G i plazme i ponovne pojave fibrilacije atrijske nakon izolacije plućnih vena. Čini se da pacijenti s recidivom fibrilacije atrijske imaju nominalno više proupalni oblik glikozilacije u plazmi (GP15), ali bez statističke značajnosti nakon prilagodbe za višestruko testiranje.

Postoji statistički značajna povezanost između glikozilacije imunoglobulina G i fibroze lijevog atrijske. IgG glikan peak GP8 (FA2[6]G1) povećan je u bolesnika s fibrozom lijevog atrijske u usporedbi s bolesnicima bez fibroze. Čini se da je nekoliko drugih N-glikana imunoglobulina G (GP6, G1, B) i N-glikana u plazmi (GP4, LB, GP26 i GP32) nominalno različito u bolesnika s fibrozom lijevog atrijske, ali razlika ne ostaje značajna nakon prilagodbe za višestruko testiranje.

Preliminarni rezultati su prvi put pokazali da postoji povezanost između proupalne glikozilacije imunoglobulina G i patološkog supstrata u bolesnika s fibrilacijom atrijske. Međutim, potrebne su daljnje studije kako bi se potvrdila ili odbacila ova teorija.

## 8. SAŽETAK

**UVOD:** Fibroza lijevog atrija (LA) snažno je povezana s lošijom prognozom fibrilacije atrija (FA) i recidivom nakon izolacije plućnih vena (PVI). Postoje jaki dokazi o ključnoj ulozi upale u patogenezi fibroze LA-a. Proupalni oblici imunoglobulina G (IgG) i N-glikana u plazmi povezani su s hipertenzijom, aterosklerozom, kardiovaskularnom smrtnošću, hipertrofijom lijeve klijetke i aortnom stenozom. Ovo je prvo istraživanje IgG-a i N-glikana u plazmi kod bolesnika s AF-om.

**CILJEVI:** Utvrditi postoji li veza između specifičnih svojstava glikozilacije IgG-a i N-glikana u plazmi, fibroze LA-a i recidiva AF-a nakon PVI-a.

**DIZAJN STUDIJE:** Pacijenti s paroksizmalnom ili perzistentnom AF-om i indikacijom za PVI konsekutivno su uključeni u ovu prospektivnu nerandomiziranu studiju.

**PACIJENTI I METODE:** Pacijenti sa strukturnom bolešću srca, akutnom ili kroničnom upalnom bolešću ili anamnezom karcinoma isključeni su iz studije. Nakon uzimanja uzoraka krvi za analizu N-glikana tekućom „ultra-performance“ kromatografijom, učinjena je PVI radiofrekventnom ablacijom pomoću Carto 3D sustava prema CLOSE protokolu. Neposredno prije ablacije izvršeno je elektro-anatomske mapiranje napona lijevog atrija u sinusnom ritmu. Pacijenti su praćeni 6 mjeseci. Rekurencija AF-a otkrivena je prijavljivanjem simptoma, 24-satnim holter EKG-om ili transtelefonskim EKG-om.

**REZULTATI:** Obuhvaćeno je 114 bolesnika (65 % muškaraca i 35 % žena) aritmetičke sredine vrijednosti dobi 61 godina uz standardnu devijaciju od 9 godina. 30 (27 %) bolesnika imalo je perzistentnu AF, a 83 (73 %) paroksizmalnu. Značajna fibroza LA-a ( $\geq 5$  % površine) pronađena je u 62 bolesnika (54 %). U 34 bolesnika (30 %) verificirana je rekurencija i to transtelefonskim EKG-om u 31 bolesnika, a holter EKG-om u samo 12 bolesnika. Pacijenti s perzistentnom AF-om imali su stopu recidiva 46 %, a oni s paroksizmalnom 23 %. Recidiv AF-a zabilježen je kod 19 pacijenata (36 %) s fibrozom LA, a kod 14 bolesnika (23 %) bez fibroze

LA. Nije bilo statistički značajne razlike u IgG N-glikanima između bolesnika s recidivom i bez recidiva AF-a nakon PVI-a. Plazma GP15 nominalno je snižen u bolesnika s recidivom AF-a, ali razlika nije statistički značajna. IgG GP8 povećan je u bolesnika s LA fibrozom ( $P < 0,01$ ). IgG GP6, kao i G1 i B, također su se samo nominalno razlikovali, ali bez statistički značajne razlike. Također je zabilježeno samo nominalno povišenje GP4 i LB u plazmi te sniženje GP26 i GP32 u bolesnika s LA fibrozom, ali bez statističke značajnosti.

ZAKLJUČAK: Ne postoji povezanost između specifične glikozilacije IgG-a i plazmatskih N-glikana i recidiva AF nakon PVI-a. IgG GP8 značajno je povišen u bolesnika s fibrozom LA-a. Preliminarni su rezultati prvi put pokazali da postoji povezanost između proupalne IgG glikozilacije i patološkog supstrata u bolesnika s AF-om, no potrebne su daljnje studije kako bi se potvrdila ova teorija.

Ključne riječi: fibrilacija atrijska, glikani, imunoglobulin G, izolacija plućnih vena, fibroza lijeve atrijske, rekurencija.

## 9. SUMMARY

### ASSOCIATIONS OF IMMUNOGLOBULIN G N-GLYCOME WITH LEFT ATRIAL FIBROSIS AND ATRIAL FIBRILLATION RECURRENCE AFTER PULMONARY VEIN ISOLATION

**INTRODUCTION:** Left atrial (LA) fibrosis is strongly associated with a worse prognosis for atrial fibrillation (AF) and recurrence after pulmonary vein isolation (PVI). There is also strong evidence of the pivotal role of inflammation in the pathogenesis of LA fibrosis. Proinflammatory forms of immunoglobulin G (IgG) and plasma N-glycans are associated with hypertension, atherosclerosis, cardiovascular mortality, left ventricular hypertrophy and aortic stenosis. This study is the first to investigate IgG and plasma N-glycans in AF patients.

**OBJECTIVES:** To determine whether there is an association between specific glycosylation traits of IgG and plasma N-glycans, LA fibrosis and AF recurrence after PVI.

**STUDY DESIGN:** Patients with paroxysmal or persistent AF undergoing PVI were consecutively included in this prospective non-randomized study.

**PATIENTS AND METHODS:** Patients with structural heart disease, acute or chronic inflammatory disease or cancer history were excluded from the study. After blood sampling for IgG and plasma N-glycan ultraperformance liquid chromatography analysis, PVI was performed with radio-frequency ablation using the Carto 3D system, contact-force catheter, CLOSE protocol and ablation index. Immediately before ablation, electro-anatomical voltage mapping of the left atrium was performed in sinus rhythm. Patients were followed for 6 months. AF recurrence was detected by symptom reporting, 24-hour Holter ECG or trans-telephonic ECG.

**RESULTS:** 114 patients (65 % male and 35 % female) were included, with a mean age of 61 and standard deviation 9 years. Persistent AF was found in 30 (27 %) patients and paroxysmal in 83 (73 %) patients. Significant LA fibrosis ( $\geq 5$  % surface) was found in 62 patients (54 %). AF recurred

in 34 patients (30 %) and was verified by trans-telephonic ECG in 31 patients and by Holter ECG in only 12 patients. Patients with persistent AF had a higher recurrence rate (46 %) in comparison to paroxysmal AF patients (23 %). 19 patients (36 %) with and 14 patients (23 %) without LA fibrosis had AF recurrence. There was no statistically significant difference in IgG N-glycans between patients with and without AF recurrence after PVI. Plasma GP15 was nominally decreased in patients with AF recurrence, but the difference did not remain statistically significant. IgG GP8 was increased in patients with LA fibrosis ( $P < 0.01$ ). IgG GP6 as well as G1 and B were also only nominally different, but without a statistical difference. There was also only a nominal increase in plasma GP4 and LB and a decrease in GP26 and GP32 in patients with LA fibrosis without any statistical significance.

**CONCLUSION:** There is no association between the specific glycosylation of both IgG and plasma N-glycans and AF recurrence after PVI. IgG GP8 is significantly increased in patients with LA fibrosis. The preliminary results have shown for the first time that there is an association between pro-inflammatory IgG glycosylation and the pathological substrate in AF patients, but further studies are needed to confirm this theory.

**Key words:** atrial fibrillation, glycans, immunoglobulin G, pulmonary vein isolation, left atrial fibrosis, recurrence.



**10. LITERATURA**

1. Ball J, Carrington MJ, McMurray JJ, Stewart S. Atrial fibrillation: profile, and burden of an evolving epidemic in the 21st century. *Int J Cardiol.* 2013;167(5):1807-24.
2. Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, et al. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med.* 1998;339:659–66.
3. Markides V, Schilling RJ. Atrial fibrillation: classification, pathophysiology, mechanisms and drug treatment. *Heart.* 2003;89(8):939–43.
4. Leong-Sit P, Zado E, Callans DJ, Garcia F, Lin D, Dixit S, et al. Efficacy and risk of atrial fibrillation ablation before 45 years of age. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2010;3:452-7.
5. Tanner H, Makowski K, Roten L, Seiler J, Schwick N, Müller C, et al. Catheter ablation of atrial fibrillation as first-line therapy — a single-centre experience. *Europace.* 2011;13:646-53.
6. Nielsen JC, Johannessen A, Raatikainen P, Johannessen A, Raatikainen P, Janzon M, et al. Radiofrequency Ablation as Initial Therapy in Paroxysmal Atrial Fibrillation. *N Engl J Med.* 2012;367:1587-95.
7. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation.* 1995;92:1954–68.
8. Spach MS, Dolber PC. Relating extracellular potentials and their derivatives to anisotropic propagation at a microscopic level in human cardiac muscle: evidence for electrical uncoupling of side to side fiber connections with increase in age. *Circ Res.* 1986;56:356–71.
9. Spach MS, Boineau JP. Microfibrosis produces electrical load variations due to loss of side-to-side cell connections: a major mechanism of structural heart disease arrhythmias. *Pacing Clin Electrophysiol.* 1997;20:397–413.
10. Kostin S, Klein G, Szalay Z, Hein S, Bauer EP, Schaper J. Structural correlate of atrial fibrillation in human patients. *Cardiovasc Res.* 2002;54:361–79.
11. Boldt A, Wetzel U, Lauschke J, Weigl J, Gummert J, Hindricks G, et al. Fibrosis in left atrial tissue of patients with atrial fibrillation with and without underlying mitral valve disease. *Heart.* 2004;90:400–5.
12. Daccarett M, Badger TJ, Akoum N, Burgon NS, Mahnkopf C, Vergara G, et al. Association of Left Atrial Fibrosis Detected by Delayed-Enhancement Magnetic

- Resonance Imaging and the Risk of Stroke in Patients With Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(7):831–38.
13. Akoum N, Daccarett M, McGann C, Segerson N, Vergara G, Kuppahally S, et al. Atrial fibrosis helps select the appropriate patient and strategy in catheter ablation of atrial fibrillation: A DE-MRI guided approach. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2011;22:16–22.
  14. Callans D, Ren JF, Michele J, Marchlinski FE, Dillon SM. Electroanatomic left ventricular mapping in the porcine model of healed anterior myocardial infarction. Correlation with intracardiac echocardiography and pathological analysis. *Circulation.* 1999;100:1744–50.
  15. Verma A, Wazni OM, Marrouche NF, Martin DO, Kilicaslan F, Minor S, et al. Pre-existent left atrial scarring in patients undergoing pulmonary vein antrum isolation: an independent predictor of procedural failure. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(2):285-92.
  16. Oakes RS, Badger TJ, Kholmovski EG, Akoum N, Burgon NS, Fish EN, et al. Detection and quantification of left atrial structural remodeling with delayed-enhancement magnetic resonance imaging in patients with atrial fibrillation. *Circulation.* 2009;119(13):1758-67.
  17. Yamaguchi T, Tsuchiya T, Nagamoto Y, Miyamoto K, Murotani K, Okishige K, et al. Long-term results of pulmonary vein antrum isolation in patients with atrial fibrillation: an analysis in regards to substrates and pulmonary vein reconnections. *Europace.* 2014;16: 511–20.
  18. Huo Y, Gaspar T, Pohl M, Sitzy J, Richter U, Neudeck S, et al. Prevalence and predictors of low voltage zones in the left atrium in patients with atrial fibrillation. *Europace.* 2018;20(6):956-62.
  19. Rolf S, Kircher S, Arya A, Eitel C, Sommer P, Richter S, et al. Tailored atrial substrate modification based on low-voltage areas in catheter ablation of atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2014;7(5):825-33.
  20. Schreiber D, Rieger A, Moser F, Kottkamp H. Catheter ablation of atrial fibrillation with box isolation of fibrotic areas: Lessons on fibrosis distribution and extent, clinical characteristics, and their impact on long-term outcome. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2017;28(9):971-83.
  21. Szavits Nossan J, Šesto I, Štambuk K, Šipić T, Bernat R, Gudelj I, et al. Is the extent of left atrial fibrosis associated with body mass index in patients undergoing pulmonary vein isolation for atrial fibrillation? *Kardiolog Pol.* 2021;79(5):531–8.
  22. Kottkamp H., Shreiber D., Moser F., Rieger A. Therapeutic approaches to atrial fibrillation ablation targeting atrial fibrosis. *JACC Clin Electrophysiol.* 2017;3(7):643-53.

23. Andrade J, Khairy P, Dobrev D, Nattel S. The clinical profile and pathophysiology of atrial fibrillation: relationships among clinical features, epidemiology, and mechanisms. *Circ Res*. 2014;114(9):1453-68.
24. Platonov PG, Mitrofanova LB, Orshanskaya V, Ho SY. Structural Abnormalities in Atrial Walls Are Associated With Presence and Persistency of Atrial Fibrillation But Not With Age. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58(21):2225-32.
25. Wong C, Sullivan T, Sun M, Mahajan R, Pathak RK, Middeldorpet M, et al. Obesity and the risk of incident, post-operative and post ablation atrial fibrillation: a meta-analysis of 626,603 individuals in 51 studies. *J Am Coll Cardiol Clin Electrophysiol*. 2015;1:139 –52.
26. Wang TJ, Parise H, Levy D, D'Agostino RB Sr, Wolf PA, Vasan RS, et al. Obesity and the risk of new-onset atrial fibrillation. *JAMA*. 2004;292:2471–77.
27. Tsang TS, Barnes ME, Miyasaka Y, Cha SS, Bailey KR, Verzoet GC, et al. Obesity as a risk factor for the progression of paroxysmal to permanent atrial fibrillation: a longitudinal cohort study of 21 years. *Eur Heart J*. 2008;29:2227–33.
28. Middeldorp ME, Pathak RK, Meredith M, Mehta AB, Elliott AD, Mahajan R, et al. PREVENTion and regReSSive Effect of weight-loss and risk factor modification on Atrial Fibrillation: the REVERSE-AF study. *Europace*. 2018;20:1929–35.
29. Abed HS, Samuel CS, Lau DH, Kelly DJ, Royce SG, Alasadyet M, et al. Obesity results in progressive atrial structural and electrical remodelling: implications for atrial fibrillation. *Heart Rhythm*. 2013;10:90–100.
30. Tedrow UB, Conen D, Ridker PM, Cook NR, Koplan BA, Manson JE, et al. The long- and short-term impact of elevated body mass index on the risk of new atrial fibrillation the WHS (women's health study). *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:2319–23.
31. Kosiuk J, Van Belle Y, Bode K, Kornej J, Arya A, RolfS, et al. Left ventricular diastolic dysfunction in atrial fibrillation: predictors and relation with symptom severity. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2012;23:1073–77.
32. Thanassoulis G, Massaro JM, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Levy D, Ellinor PT et al. Pericardial fat is associated with prevalent atrial fibrillation: the framingham heart study. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2010;3:345–50.
33. Wong CX, Abed HS, Molaee P, Nelson AJ, Brooks AG, Sharma G, et al. Pericardial fat is associated with atrial fibrillation severity and ablation outcome. *J Am Coll Cardiol*. 2011; 57:1745–51.

34. Mazurek T, Zhang L, Zalewski A, Mannion JD, Diehl JT, Arafat H, et al. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. *Circulation*. 2003;108:2460–66.
35. Harada M, Van Wagoner DR, Nattel S. Role of Inflammation in Atrial Fibrillation Pathophysiology and Management. *Circ J*. 2015;79(3):495–502.
36. Hu YF, Chen YJ, Lin YJ, Chen SA. Inflammation and the pathogenesis of atrial fibrillation. *Nat. Rev. Cardiol*. 2015;12:230–43.
37. Frustaci A, Chimenti C, Bellocci F, Morgante E, Russo MA, Maseri A. Histological substrate of atrial biopsies in patients with lone atrial fibrillation. *Circulation*. 1997;96:1180–84.
38. Chen MC, Chang JP, Liu WH, Yang CH, Chen YL, Tsai TH, et al. Increased inflammatory cell infiltration in the atrial myocardium of patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol*. 2008;102:861–65.
39. Chung MK, Martin DO, Sprecher D, Wazni O, Kanderian A, Cames CA, et al. C-reactive protein elevation in patients with atrial arrhythmias: Inflammatory mechanisms and persistence of atrial fibrillation. *Circulation*. 2001;104:2886–91.
40. Wu N, Xiang Y, Wu L, Zhang Y, Ma X, Tong S, et al. Association of inflammatory factors with occurrence and recurrence of atrial fibrillation: A meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2013;169:62–72.
41. Marcus GM, Smith LM, Ordovas K, Scheinman MM, Kim AM, Badhawar N et al. Intra and extracardiac markers of inflammation during atrial fibrillation. *Heart Rhythm*. 2010;7:149–54.
42. Li J, Solus J, Chen Q, Rho YH, Milne G, Stein CM et al. The role of inflammation and oxidative stress in atrial fibrillation. *Heart Rhythm*. 2010;7:438–44.
43. Li M, Yang G, Xie B, Babu K, Huang C. Changes in matrix metalloproteinase-9 levels during progression of atrial fibrillation. *J Int Med Res*. 2014;42:224–30.
44. Shao Q, Liu H, Ng CY, Xu G, Liu E, Li G, et al. Circulating serum levels of growth differentiation factor-15 and neuregulin-1 in patients with paroxysmal non-valvular atrial fibrillation. *Int J Cardiol*. 2014;172:311–13.
45. Clementy N, Piver E, Bisson A, Andre C, Bernard A, Pierre B, et al. Galectin-3 in Atrial Fibrillation: Mechanisms and Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci*. 2018;19:976.
46. Yalcin MU, Gurses KM, Kocyigit D, Canpinar H, Canpolat U, Evranos B, et al. The Association of Serum Galectin-3 Levels with Atrial Electrical and Structural Remodeling. *Cardiovasc Electrophysiol*. 2015;26:635–40.

47. Dong R, Zhang M, Hu Q, Zheng S, Soh A, Zheng Y, et al. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review). *Int JMol Med*. 2018;41:599–614.
48. Verma A, Mantovan R, Macle L, De Martino G, Chen J, Morillo CA, et al. Substrate and Trigger Ablation for Reduction of Atrial Fibrillation (STAR AF): A randomized, multicentre, international trial. *Eur Heart J*. 2010;31:1344–56.
49. Kornej J, Schmidl J, Bollmann A. Galectin-3 in atrial fibrillation: A novel marker of atrial remodeling or just bystander? *Am J Cardiol*. 2015;116:163.
50. Gudelj I, Lauc G, Pezer M. Immunoglobulin G glycosylation in aging and diseases. *Cellular Immunology*. 2018;333:65-79.
51. Moremen KW, Tiemeyer M, Nairn AV. Vertebrate protein glyco-sylation: diversity, synthesis and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*.2012;13:448–62.
52. Dube DH, Bertozzi CR. Glycans in cancer and inflammation—potential for therapeutics and diagnostics. *Nat Rev Drug Discov*.2005;4:477–88.
53. Gudelj I, Lauc G. Protein N-Glycosylation in Cardiovascular Diseases and Related Risk Factors. *Curr Cardiovasc Risk Rep*. 2018;12:16.
54. Lawler PR, Akinkuolie AO, Chandler PD, Moorthy M V, VanDenburgh MJ, Schaumberg DA, et al. Circulating N-linked glycoprotein acetyls and longitudinal mortality risk. *Circ Res*. 2016;118(7):1106-15.
55. Menni C, Gudelj I, MacDonald-Dunlop E, Mangino M, Zierer J, BešićE,etal.Glycosylation profile of immunoglobulin G is crosssectionally associated with cardiovascular disease risk score and subclinical atherosclerosis in two independent cohorts. *Circ Res*. 2018; 122(11):1555–64.
56. Suzuki H, Chikada M, Yokoyama MK, Kurokawa MS, Ando T, Furukawa H, et al. Aberrant glycosylation of lumican in aortic valve stenosis revealed by proteomic analysis. *Int Heart J*. 2016;57:104–11.
57. Nagai-Okatani C, Minamino N. Aberrant glycosylation in the left ventricle and plasma of rats with cardiac hypertrophy and heart failure. *PLoS One*. 2016;11.
58. PengJ,JiangJ,WangW,QiX,SunXL,WuQ.Glycosylationand processing of pro-B-type natriuretic peptide in cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun*.2011;411:593–8.
59. WangY,KlarićL,YuX,ThaqiK,DongJ,NovokmetMetal.The association between glycosylation of immunoglobulin G and hypertension. *Med (United States)*. 2016;95.

60. Barallobre-Barreiro J, Gupta SK, Zoccarato A, Kitazume-Taneike R, Fava M, Yin X, et al. Glycoproteomics reveals Decorin Peptides With anti-Myostatin activity in human atrial Fibrillation. *Circulation*. 2016;134:817–832.
61. Huo Y, Christoph M, Forkmann M, Pohl M, Mayer J, Salmas J, et al. Reduction of radiation exposure during atrial fibrillation ablation using a novel fluoroscopy image integrated 3-dimensional electroanatomic mapping system: A prospective, randomized, single-blind, and controlled study. *Heart Rhythm*. 2015;12:1945–55.
62. van Brakel TJ, van der Krieken T, Westra SW, van der Laak JA, Smeets JL, vanSwieten HA. Fibrosis and electrophysiological characteristics of the atrial appendage in patients with atrial fibrillation and structural heart disease. *J Interv Card Electrophysiol*. 2013;38:85–93.
63. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei B, et al. 2016 ESC. Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *Europace*. 2016;18:1609–78.
64. Kottkamp H, Berg J, Bender R, Rieger A, Shreiber D. Box Isolation of Fibrotic Areas (BIFA): A Patient-Tailored Substrate Modification Approach for Ablation of Atrial Fibrillation. *Journal of Cardiovasc Electrophysiol*. 2016;27 22-30.
65. Akoum N, Badger T, Adjei-Poku, Burgon N, Haslam T, McGann C, et al. Pre-ablation assessment of structural remodeling in atrial fibrillation helps select successful ablation strategy. *Circulation*. 2009;120:S691.
66. Burstein B, Nattel S. Atrial fibrosis: mechanisms and clinical relevance in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:802–9.
67. Stiles MK, John B, Wong CX, Kuklik P, Brooks AG, Lau DH, et al. Paroxysmal lone atrial fibrillation is associated with an abnormal atrial substrate: characterizing the “second factor“. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53:1182–91.
68. Kottkamp H. Atrial fibrillation substrate: the ‘unknown species’—from lone atrial fibrillation to fibrotic atrial cardiomyopathy. *Heart Rhythm*. 2012;9:481–2.
69. Kottkamp H. Fibrotic atrial cardiomyopathy: a specific disease/syndrome supplying substrates for atrial fibrillation, atrial tachycardia, sinus node disease, AV node disease, and thromboembolic complications. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2012;23:797–9.
70. Medi C, Kalman JM, Spence SJ, Teh AW, Lee G, Bader I, et al. Atrialelectrical and structural changes associated with longstanding hypertension in humans: Implications for the substrate for atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2011;22:1317–24.

71. Teh AW, Kistler PM, Lee G, Medi C, Heck PM, Spence SJ, et al. Electroanatomic remodeling of the left atrium in paroxysmal and persistent atrial fibrillation patients without structural heart disease. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2012;23:232–8.
72. Tuan TC, Chang SL, Tsao HM, Tai CT, Lin YJ, Hu YF, et al. The impact of age on the electroanatomical characteristics and outcome of catheter ablation in patients with atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2010;21(50):966–72.
73. Nielsen JC, Johannessen A, Raatikainen P, Hindricks G, Walfridsson H, Kongstad O, et al. Radiofrequency Ablation as Initial Therapy in Paroxysmal Atrial Fibrillation. *N Engl J Med.* 2012;367:1587–95.
74. Calkins H, Kuck KH, Cappato R, Brugada J, Camm AJ, Chen SA et al. 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. *Europace.* 2012;14:528–606.
75. Arentz T, Weber R, Bürkle G, Herrera C, Blum T, Stockinger J, et al. Small or large isolation areas around the pulmonary veins for the treatment of atrial fibrillation? Results from a prospective randomized study. *Circulation.* 2007;115:3057–63.
76. Ouyang F, Antz M, Ernst S, Hachiya H, Mavrakis H, Deger FT, et al. Recovered pulmonary vein conduction as a dominant factor for recurrent atrial tachyarrhythmias after complete circular isolation of the pulmonary veins: lessons from double lasso technique. *Circulation.* 2005;111:127–35.
77. Marrouche NF, Guenther J, Segerson NM, Daccarett M, Rittger H, Marschanget H, et al. Randomized comparison between open irrigation technology and intracardiac-echo-guided energy delivery for pulmonary vein antrum isolation: procedural parameters, outcomes, and the effect on esophageal injury. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2007; 18:583–8.
78. Verma A, Marrouche NF, Natale A. Pulmonary vein antrum isolation: intracardiac echocardiography-guided technique. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2004;15:1335–40.
79. Jais P, Cauchemez B, Macle L, Daoud E, Khairy P, Subbiah R, et al. Catheter ablation versus antiarrhythmic drugs for atrial fibrillation: the A4 study. *Circulation.* 2008; 118:2488–90.
80. Shah AN, Mittal S, Sichrovsky TC, Cotiga D, Arshad A, Maleki K, et al. Long-term outcome following successful pulmonary vein isolation: pattern and prediction of very late recurrence. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2008;19:661–7.

81. Oral H, Knight B, Tada H, Ozaydin M, Chugh A, Hassanein S, et al. Pulmonary vein isolation for paroxysmal and persistent atrial fibrillation. *Circulation*. 2002;105:1077–81.
82. Berte B, Hilfiger G, Moccetti F, Schefer T, Weberndörfer V, Cuculi F, et al. Pulmonary vein isolation using ablation index vs. CLOSE protocol with a surround flow ablation catheter. *EP Europace*. 2020;22:84–9.
83. Trbojević-Akmačić I, Ugrina I, Lauc G. Comparative Analysis and Validation of Different Steps in Glycomics Studies. *Methods Enzymol*. 2016;586:37–55.
84. Trbojević-Akmačić I, Ugrina I, Štambuk J, Gudelj I, Vučković F, Lauc G, et al. High Throughput Glycomics : Optimization of Sample Preparation. *Biochem*. 2015;80:934–42.
85. Burnina I, Hoyt E, Lynaugh H, Li H, Gong B. A cost-effective plate-based sample preparation for antibody N-glycan analysis. *J Chromatogr*. 2013;1307:201-6.
86. Stockmann H, Coss KP, Rubio-Gozalbo ME, Knerr I, Fitzgibbon M, Maratha A, et al. IgG N-Glycosylation Galactose Incorporation Ratios for the Monitoring of Classical Galactosaemia. *JIMD Rep*. 2016;27:47-53.
87. Kluyver T, Ragan-Kelley B, Perez F, Granger B, Bussonnier M, Frederic J, et al. Jupyter Notebooks—a publishing format for reproducible computational workflows. In: Loizides F, Schmidt B, eds. *Positioning and Power in Academic Publishing: Players, Agents and Agendas*. Clifton, VA: IOS Press; 2016;87–90.
88. Philips T, Taghji P, El Haddad M, Wolf M, Knecht S, Vandekerckhove Y, et al. Improving procedural and one-year outcome after contact force-guided pulmonary vein isolation: the role of interlesion distance, ablation index, and contact force variability in the 'CLOSE'-protocol. *Europace*. 2018;20:419-27.
89. Kuck KH, Brugada J, Fürnkranz A, Metzner A, Ouyang F, Chun KR, et al. Cryoballoon or Radiofrequency Ablation for Paroxysmal Atrial Fibrillation. *N Engl J Med*. 2016;374(23):2235-45.
90. Kuck KH, Fürnkranz A, Chun KR, Metzner A, Ouyang F, Schlüter M, et al. Cryoballoon or radiofrequency ablation for symptomatic paroxysmal atrial fibrillation: reintervention, rehospitalization, and quality-of-life outcomes in the FIRE AND ICE trial. *Eur Heart J*. 2016;37(38):2858-65.
91. Kuck KH, Albenque JP, Chun KJ, Fürnkranz A, Busch M, Elvan A, et al. Repeat Ablation for Atrial Fibrillation Recurrence Post Cryoballoon or Radiofrequency Ablation in the FIRE AND ICE Trial. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2019;12(6):e007247.



92. Murray MI, Arnold A, Younis M, Varghese S, Zeiher AM. Cryoballoon versus radiofrequency ablation for paroxysmal atrial fibrillation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Res Cardiol.* 2018;107(8):658-69.
93. Tondo C, Tritto M, Landolina M, DE Girolamo P, Bencardino G, Moltrasio M, et al. Rhythm-symptom correlation in patients on continuous monitoring after catheter ablation of atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2014;25(2):154-60.
94. Verma A, Champagne J, Sapp J, Essebag V, Novak P, Skanes A, et al. Discerning the incidence of symptomatic and asymptomatic episodes of atrial fibrillation before and after catheter ablation (DISCERN AF): a prospective, multicenter study. *JAMA Intern Med.* 2013;173(2):149-56.
95. Hindricks G, Piorkowski C, Tanner H, Kobza R, Gerds-Li JH, Carbucicchio C, et al. Perception of atrial fibrillation before and after radiofrequency catheter ablation: relevance of asymptomatic arrhythmia recurrence. *Circulation.* 2005;112(3):307-13.
96. Senatore G, Stabile G, Bertaglia E, Donnici G, De Simone A, Zoppo F, et al. Role of transtelephonic electrocardiographic monitoring in detecting short-term arrhythmia recurrences after radiofrequency ablation in patients with atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(6):873-6.
97. Sørensen SK, Johannessen A, Worck R, Hansen ML, Hansen J. Radiofrequency vs. Cryoballoon Catheter Ablation for Paroxysmal Atrial Fibrillation: Durability of Pulmonary Vein Isolation and Effect on AF Burden: The RACE-AF Randomized Controlled Trial. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology.* 2021;14:e009573.
98. Nattel S. Molecular and cellular mechanisms of atrial fibrosis in atrial fibrillation. *JACC Clin Electrophysiol.* 2017;3:425–35.
99. Kong P, Christia P, Frangogiannis NG. The pathogenesis of cardiac fibrosis. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71:549–74.
100. Andrade JG, Yao RRJ, Deyell MW, Hawkins NM, Rizkallah J, Jolly U, et al. Clinical assessment of AF pattern is poorly correlated with AF burden and post ablation outcomes: A CIRCA-DOSE sub-study. *J Electrocardiol.* 2020;60:159-64.
101. Chen LY, Chung MK, Allen LA, Ezekowitz M, Furie KL, McCabe P, et al. American Heart Association Council on Clinical Cardiology; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Quality of Care and Outcomes Research; and Stroke Council. Atrial Fibrillation Burden: Moving Beyond Atrial Fibrillation as a Binary Entity: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2018;137(20):e623-e644.

102. Pieske B, Tschöpe C, de Boer RA, Fraser AG, Anker SD, Donalet E, et al. How to Diagnose Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: The HFA–PEFF Diagnostic Algorithm: A Consensus Recommendation From the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2019;40:3297-3317.
103. Rabkin SW. The relationship between epicardial fat and indices of obesity and the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Metab Syndr Relat Disord*. 2014;12:31-42.
104. Link MS, Luttmann-Gibson H, Schwartz J, Mittleman MA, Wessler B, Gold DR, et al. Acute Exposure to Air Pollution Triggers Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62: 816–25.
105. Liu X, Kong D, Liu Y, Fu J, Gao P, Chen T, et al. Effects of the short-term exposure to ambient air pollution on atrial fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2018;41(11):1441-6.
106. Gallo E, Folino F, Buja G, Zanotto G, Bottigliengo D, Comoretto R, et al. Daily Exposure to Air Pollution Particulate Matter Is Associated with Atrial Fibrillation in High-Risk Patients. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(17):6017.
107. Caixal G, Alarcón F, Althoff TF, Nuñez-García M, Benito EM, Borràs R, et al. Accuracy of left atrial fibrosis detection with cardiac magnetic resonance: correlation of late gadolinium enhancement with endocardial voltage and conduction velocity. *Europace*. 2021;23(3):380-8.
108. Liang JJ, Elafros MA, Muser D, Pathak RK, Santangeli P, Supple GE, et al. Comparison of Left Atrial Bipolar Voltage and Scar Using Multielectrode Fast Automated Mapping versus Point-by-Point Contact Electroanatomic Mapping in Patients With Atrial Fibrillation Undergoing Repeat Ablation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2017;28(3):280-8.
109. Wright J N, Collins HE, Wende AR, Chatham JC. GlcNAcylation and cardiovascular disease. *Biochem Soc Trans*. 2017;45:545–53.
110. Mailleux F, Gélinas R, Beauloye C, Horman S, Bertrand L. OGlcNAcylation, enemy or ally during cardiac hypertrophy development? *Biochim Biophys Acta*. 2016;1862(12):2232-43.
111. Hansen LH, Madsen TD, Goth CK, Clausen H, Chen Y, Dzhyoyashvili N, et al. Discovery of O-glycans on atrial natriuretic peptide (ANP) that affect both its proteolytic degradation and potency at its cognate receptor. *J Biol Chem*. 2019;294(34):12567-78.
112. Schwetz TA, Norring SA, Bennett ES. N-glycans modulate Kv1.5 gating but have no effect on Kv1.4 gating. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1798(3):367-75.

113. Wang Z, Fermini B, Nattel S. Sustained depolarization-induced outward current in human atrial myocytes. Evidence for a novel delayed rectifier K<sup>+</sup> current similar to Kv1.5 cloned channel currents, *Circ. Res.* 1993;73:1061–76.
114. Banda NK, Wood AK, Takahashi K, Levitt B, Rudd PM, Royle L, et al. Initiation of the alternative pathway of murine complement by immune complexes is dependent on N-glycans in IgG antibodies. *Arthritis Rheumatism* 2008;58:3081–9.

## 11. ŽIVOTOPIS

### Osobni podaci

Ime: **Janko Szavits-Nossan**  
Mjesto i datum rođenja: Zagreb, 18. studeni 1978.  
Adresa: Mesnička 4, 10000 Zagreb  
Kontakt: +385 49244115,  
mobitel +385 99 252 9547,  
e-mail: janko.szavits-nossan@magdalena.hr  
janko.szavitsnossan@gmail.com

### Školsko obrazovanje

9/84 - 6/92 Osnovna škola „Josip Juraj Strossmayer“, Zagreb  
9/92 - 6/96 V. gimnazija, Zagreb

### Medicinski fakultet

9/96 - 6/03 Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu  
2002. Internal medicine, Nottingham City Hospital, Nottingham, UK (2 mjeseca)

### Sekundarijat

09/03-09/04 Magdalena – Specijalna bolnica za kardiovaskularnu kirurgiju i  
kardiologiju, Krapinske Toplice

### Specijalizacija i supspecijalizacija

03/05-09/09 Interna medicina - KB "Sestre Milosrdnice", Zagreb  
2010-2013. Kardiologija – Magdalena, klinika za kardiovaskularne bolesti, Krapinske  
Toplice

### **Stručno usavršavanje**

2010. -2012. Edukacija o implantaciji elektrostimulatora (Hrvatska i Švicarska)

2012.-2015. Edukacija o Carto 3D ablaciji (PVI, AT i VT/ES) - Hamburg, Budimpešta, Basel

### **Postdiplomski studij**

- Medicinski Fakultet u Zagrebu 2008.-2009.
- Medicinski Fakultet u Osijeku od 2011. (apsolvent)

### **Trenutačno zaposlenje i funkcije**

2009. Magdalena – klinika za kardiovaskularne bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josip Juraj Strossmayer u Osijeku, Ljudevita Gaja 2, Krapinske Toplice

2014. Voditelj Laboratorija za elektrofiziologiju srca i Odjela II Kardiologije KlinikMagdalena

2016. Pomoćnik ravnatelja za kontrolu kvalitete Klinike Magdalena

Postignuće: Dijamantna akreditacija Accreditation Canada International

### **Kliničke vještine**

- *Neinvazivni kardiološki postupci i zahvati*: ehokardiografija, ergometrija, očitavanje 24-satnog EKG-a, kontrola elektrostimulatora, ICD/CRT
- *Invazivni postupci*: koronarografije i kateterizacije srca (300 godišnje), perkutane koronarne intervencije (150 godišnje)
- *Elektrofiziološki zahvati*: elektrofiziološka ispitivanja i kateterske ablacije (300 godišnje) uključujući ablacije kompleksnih aritmija uz Carto 3D sustav (100 godišnje)
- *Ugradnja elektrostimulatora, ICD/CRT-D*: (110 godišnje)

### **Znanstveni projekti**

1. EuroAspire III/ coronary disease/International/SI
2. Gloria-AF phase I,II,III/atrial fibrillation/International/PI
3. EU-CERT-ICD/electrophysiology/International/EC funded/PI

4. ATP-PCI/ coronary disease/PCI/SI

**Ostale vještine**

- Detaljno poznavanje: MS Windows; Word, Excel, Power Point
- Znanje jezika: tečno engleski i pasivno njemački

**Članstva u profesionalnim organizacijama**

- Hrvatska liječnička komora
- Hrvatsko kardiološko društvo, član nukleusa radne skupine za aritmije i elektrostimulaciju
- European Heart Rhythm Association (EHRA)
- 2014.- 2017. Young EP ambassador za Hrvatsku pri udruženju EHRA

**Znanstvene i stručne publikacije**

***a) Publikacije u časopisima indeksiranim u CC, SCI i SCIE***

1. **Szavits Nossan J**, Šesto I, Štambuk K, Šipić T, Bernat R, Gudelj I, Rotkvić L, Žulj M, Mirat J. Is the extent of left atrial fibrosis associated with body mass index in patients undergoing pulmonary vein isolation for atrial fibrillation? *Kardiol Pol.* 2021. doi: 10.33963/KP.15910. Epub ahead of print.
2. Zabel M, Sticherling C, Willems R, Lubinski A, Bauer A, Bergau L, Braunschweig F, Brugada J, Brusich S, Conen D, Cygankiewicz I, Flevari P, Taborsky M, Hansen J, Hasenfuß G, Hatala, Huikuri HV, Lovev S, Kääb S, Kaliska G, Kasprzak JD, Lüthje L, Malik M, Novotny T, Pavlović N, Schmidt G, Shalганov T, Sritharan R, Schlögl S, **Szavits Nossan J**, Traykov V, Tuinenburg AE, Velchev V, Vos MA, Willich SN, Friede T, Svendsen JH, Merkely B for the EU-CERT-ICD Study Investigators. Rationale and design of the EU-CERT-ICD prospectivestudy: comparative effectiveness of prophylactic ICDimplantation. *ESC Heart Failure.* 2018;6(1):182-93.

3. Zabel M, Willems R, Lubinski A, Bauer A, Brugada J, Conen D, Flevari P, Hasenfuß G, Svetlosak M, Huikuri HV, Malik M, Pavlović N, Schmidt G, Sritharan R, Schlögl S, **Szavits-Nossan J**, Traykov V, Tuinenburg AE, Willich SN, Harden M, Friede T, Svendsen JH, Sticherling C, Merkely B; EU-CERT-ICD Study Investigators. Clinical effectiveness of primary prevention implantable cardioverter-defibrillators: results of the EU-CERT-ICD controlled multicentre cohort study. *Eur Heart J*. 2020;41(36):3437-47.
4. Zabel M, Schlögl S, Lubinski A, Hastrup Svendsen J, Bauer A, Arbelo E, Brusich S, Conen D, Cygankiewicz I, Dommasch M, Flevari P, Galuszka J, Hansen J, Hasenfuß G, Hatala R, Huikuri HV, Kenttä T, Kucejko T, Haarmann H, Harden M, Iovev S, Kääb S, Kaliska G, Katsimardos A, Kasprzak JD, Qavoq D, Lüthje L, Malik M, Novotný T, Pavlović N, Perge P, Röver C, Schmidt G, Shalghanov T, Sritharan R, Svetlosak M, Sallo Z, **SzavitsNossan J**, Traykov V, Vandenberk B, Velchev V, Vos MA, Willich SN, Friede T, Willems R, Merkely B, Sticherling C, EU-CERT-ICD Study Investigators. Present criteria for prophylactic ICD implantation: Insights from the EU-CERT-ICD (Comparative Effectiveness Research to Assess the Use of Primary ProphylacTic Implantable Cardioverter Defibrillators in EUrope) project. *J Electrocardiol*. 2019;57:34-9.
5. Bernat R, **Szavits-Nossan J**, Trbović A, Kapov-Sviličić K, Šesto I, Šipić T. Relationship of Genetic Markers for Atherosclerosis and Long-Term Outcome after Percutaneous Coronary Intervention with Stenting. *Coll Antropol*. 2012;36:4.
6. **Szavits-Nossan J**, Stipić H, Šesto I, Kapov-Sviličić K, Šipić T, Bernat R. Angiographic Control and Percutaneous Treatment of Myocardial Ischemia Immediately after CABG. *Coll Antropol*. 2012;36:4.
7. Šipić T, Štambuk K., Trbović A, Kapov-Sviličić K, **Szavits-Nossan J**, Bernat R. Echocardiographic assessment of revascularization completeness impact on diastolic dysfunction in ischemic heart disease. *Coll Antropol*. 2013;37(4):1299-305.
8. Pintarić H, Manola Š, **Szavits Nossan J**, Pavlović N, Delić-Brkljacić D, Radeljić V. Electrophysiological effects, efficacy and safety of intravenous propafenone in termination of atrioventricular nodal reentrant tachycardia and atrioventricular reentrant tachycardia: a prospective non-randomized interventional study. *Acta Clin Croat*. 2010;49(1):25-31.

***b) Ostale publikacije i kongresni sažeci***

1. Sef D, **Szavits-Nossan J**, Predrijevac M, Golubic R, Sipic T, Stambuk K, Korda Z, Meier P, Turina MI. Management of perioperative myocardial ischaemia after isolated coronary artery bypass graft surgery. *Open Heart*. 2019;6:e001027.
2. Zeljković I, Manola Š, Radeljić V, Traykov V, Velagić V, Pezo Nikolić B, Pernat A, Jan M, Anić A, **Szavits Nossan J**, Pavlović N. Southeast and Central European Pulmonary Vein Isolation Registry – rationale and current status. *Cardiol Croat*. 2016;11(10-11):428.
3. Sakan S, Prajdić-Predrijevac D, Juranko V, Novkoski M, Povšić-Čevra Z, **Szavits-Nossan J**, Šesto I, Razum M, Rotkvić L, Budimir I, Todorić N, Andrijašević N, Korda ZA. Racionalna primjena antimikrobnih lijekova u svakodnevnoj kliničkoj praksi implementacijom bolničkog programa praćenja antimikrobnih lijekova (antimicrobial stewardship). *Acta Med Croatica*, 2018;72:325-32.
4. **Szavits-Nossan J**. Long term results of PCI with DES-real life five-year single center experience. 4th National Meeting on Interventional Cardiology, oral presentation, Dubrovnik, March 2011.
5. **Szavits-Nossan J**, Bernat R, Miličić N, Jukić M, Stipić H, Šesto M. “Perioperativna i rana postoperativna koronarografija i PCI nakon CABG”, -u: Čikeš N. (ur.), 5. kongres Hrvatskog kardiološkog društva, svibanj 2004, Opatija, *Liječnički Vjesnik* 126(1): 63.
6. Sefer S, Kes P, Raić B, Heinrich B, Degoricija V, **Szavits-Nossan J**. The impact of heparin bolus from dysfunctional lumen of dual lumen central venous catheter on activated partial thromboplastin time during hemodialysis: is additional heparinization necessary? *Acta medica Croatica: časopis Hrvatske akademije medicinskih znanosti*. Jun 2006.
7. Jukić M, Stipić H, Bernat R, Miličić N, Batinić Z, Sipić T, Trbović A, **Szavits-Nossan J**, Kujundžić Tiljak M, Šesto M, Dugoročni rezultati liječenja sa PCI, nestabilna vs stabilna angina, -u: Čikeš N. (ur.), 5. kongres Hrvatskog kardiološkog društva, svibanj 2004, Opatija, *Liječnički Vjesnik* 126(1):67.



8. Trbović A, Stipić H, Bernat R, Jukić M, Šipić T, Miličić N, Batinić Z, **Szavits-Nossan J**, Šesto M, Telemedicinski nadzor kardioloških pacijenata u izvanbolničkim uvjetima uz pomoć transtelefonskog snimanja EKG-a, -u: Čikeš N. (ur.), 5. kongres Hrvatskog kardiološkog društva, svibanj 2004, Opatija, Liječnički Vjesnik 126(1): 80.
9. Jukić M, Bernat R, **Szavits-Nossan J**, Matasić H, Novkovski M, Šesto M, “Bail-out stenting of unprotected left main coronary artery stenosis in a high-risk patient: case report”, 12th Alpe Adria Cardiology Meeting, April-May 2004, Cividale del Friuli, Bratislava Medical Journal, 105(4): 157.
10. **Szavits-Nossan J**, Šefer S, Lovrenčić-Prpić G, Degoricija V. “Bubrežna limfangiektazija – plutajući bubrezi: prikaz slučaja” –u: Kučišec-Tepeš N. (ur.), 4. Hrvatski kongres nefrologije, dijalize i transplantacije, listopad 2005., Rovinj, Acta Medica Croatica, 2005;59:97.
11. Šefer S, Kes P, Ratković-Gusić I, **Szavits-Nossan J**. “Renal artery thromboembolism: an unrecognized cause of acute renal failure”, Acta Clinica Croatica, 2005;44(1):47-52.
12. Šefer S, Kes P, Gaćina P, Degoricija V, **Szavits-Nossan J**. “Topljivi transferinski receptori u serumu bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti i proteinurijom” –u: Kučišec-Tepeš N. (ur.), 1. kongres Hrvatskog društva za unapređenje beskrvnog liječenja, rujan 2005., Zagreb, Acta Medica Croatica, 2005;59(1):105.
13. Šefer S, **Szavits-Nossan J**, Degoricija V, Gaćina P. “Korisnost određivanja topljivih transferinskih receptora i saturacije transferina u dijagnostici manjka željeza kod bolesnika na dijalizi s povišenim feritinom.” –u: Kučišec-Tepeš N. (ur.), 1. kongres Hrvatskog društva za unapređenje beskrvnog liječenja, rujan 2005., Zagreb, Acta Medica Croatica, 2005;59(1): 147.
14. **Szavits-Nossan J**, Radaković N, Vukičević S, “Efficiency analysis of bone morphogenetic proteins (BMP), autologous bone marrow and homologous spongiosa on bone healing in defects of rabbits ulna” -in: Polašek O. (ed.), 2nd Zagreb International Medical Summit, 2002, Zagreb:23.

15. Šef D, **Szavits Nossan J**, Golubić R, Predrijevac M, Šipić T, Štambuk K, Korda ZA, Stipić H, Turina M. Management of perioperative myocardial ischemia after CABG, Conference: 31st EACTS, Vienna, 7-11 October, 2017.
16. **Szavits Nossan J**, Šesto I. Rezultati liječenja poremećaja ritma radiofrekventnom ablacijom u Klinici Magdalena 2014. Godine. *Cardiol Croat.* 2014;9(9-10):368.
17. **Szavits Nossan J**. How to manage sudden cardiac death in 2021?. 13. kongres Hrvatskog kardiološkog društva s međunarodnim sudjelovanjem.
18. **Szavits Nossan J**. Kako pristupiti bolesniku s tahikardijom uskog QRS?. *CroRhythm* 2016. 17th Croatian Symposium on Arrhythmias and Cardiac Pacing.
19. **Szavits Nossan J**. Primary Prophylactic ICD indications - Times They are a-changin'?. *CroRhythm* 2018. 18th Croatian Symposium on Arrhythmias and Cardiac Pacing.
20. **Szavits Nossan J**. Does ICD still save lives in today's patients with chronic heart failure? *CroRhythm* 2021. 19th Croatian Symposium on Arrhythmias and Cardiac Pacing (on-line).
21. **Szavits-Nossan J**, Bernat R, Štambuk K, Šipić T, Richter D, Stipić H, Šesto I, Kapov Sviličić K. „Liječenje komplikacija u interventnoj kardiologiji – prikaz odabranih slučajeva“. 9. Kongres HKD s međunarodnim sudjelovanjem Opatija Oct 13-16, 2012. *Cardiologia Croatica* 2012;7(1):37.
22. Štambuk K, Stipić H, Šipić T, Richter D, **Szavits-Nossan J**, Šesto I, Bernat R, Milašin G. Perkutane intervencije na venskim graftovima – usporedba iskustva jednog centra sa smjernicama. 10. kongres Hrvatskog kardiološkog društva s međunarodnim sudjelovanjem; Zagreb 6. - 9.11. 2014.g. *Cardiologia Croatica* 2014;9(9-10); 399.
23. Šipić T, Štambuk K, Trbović A, Kapov Sviličić K, Richter D, Šesto I, **Szavits-Nossan J**, Stipić H. Oporavak izolirane dijastoličke disfunkcije ishemijske geneze ovisno o kompletnosti revaskularizacije. 10. kongres Hrvatskog kardiološkog društva s međunarodnim sudjelovanjem; Zagreb 6. - 9.11. 2014.g. *Cardiologia Croatica* 2014; 9(9-10); 410.

*c) Znanstveni projekti*

1. The European collaborative project EU-CERT-ICD (Comparative Effectiveness Research to Assess the Use of Primary Prophylactic Implantable Cardioverter Defibrillators in Europe), 7TH FRAMEWORK PROGRAMME, Grant agreement ID: 602299. 2013. do 2018. Primarni istraživač.
2. “GLYCARD: Glycosylation in Cardiovascular Diseases” (UIP-2019-04-5692) pri Hrvatskoj zakladi za znanost. Od 2019. primarni istraživač.