
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Rolul stresului oxidativ în infarctul miocardic acut tratat intervențional

Doctorand **Dan-Alexandru Tătaru**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Remus Orăsan**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CLUJ-NAPOCA 2019

CUPRINS

INTRODUCERE	15
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Stresul oxidativ	19
1.1. Definiție	19
1.2. Anionul superoxid	20
1.3. Alte specii reactive de oxigen	23
2. Sistemul antioxidant	25
2.1. Enzimele antioxidante	25
2.2. Antioxidanții non-enzimatici	26
3. Metode de măsurare a markerilor de stres oxidativ	29
3.1. Măsurarea produșilor proceselor de peroxidare	29
3.2. Măsurarea produșilor de degradare proteică	29
3.3. Măsurarea GSH și a GSSG	29
3.4. Măsurarea capacității antioxidante totale a plasmei	30
4. Stresul oxidativ și factorii de risc cardiovascular	33
4.1. Hipertensiunea arterială	33
4.2. Diabetul zaharat	34
4.3. Hipercolesterolemia	34
4.4. Fumatul	35
4.5. Placa de aterom	35
5. Infarctul miocardic acut cu supradenivelare de segment ST	37
5.1. Definiție	37
5.2. Modificări ECG specifice	37
5.3. Epidemiologie	37
5.4. Tratamentul antitrombotic	38
5.5. Angioplastia coronariană primară	39
5.6. Revascularizarea farmacologică	40
5.7. Obstrucția microvasculară și injuria miocardică de reperfuzie	41
5.8. Rolul statinelor în infarctul miocardic acut	41
5.9. Rolul inhibitorilor enzimei de conversie în infarctul miocardic acut	42
6. Injuria miocardică de reperfuzie	43
6.1. Introducere	43
6.2. Definiție	43
6.3. Efecte clinice	43
6.4. Patogeneză	44

6.5. Precondiționarea ischemică	48
6.6. Postcondiționarea ischemică	48
6.7. Aplicații terapeutice	49
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru	53
2. Metodologie generală	55
3. Studiul 1 - Markerii de stres oxidativ în infarctul miocardic acut cu supradenivelare de segment ST, tratat prin angioplastie coronariană primară	61
3.1. Introducere	61
3.2. Ipoteza de lucru	61
3.3. Material și metodă	62
3.4. Rezultate	62
3.5. Discuții	76
3.6. Concluzii	78
4. Studiul 2 – Corelații între anatomia coronariană și markerii de stres oxidativ, la pacienți cu infarct miocardic acut cu supradenivelare de segment ST, revascularizat prin angioplastie coronariană primară	79
4.1. Introducere	79
4.2. Ipoteza de lucru	80
4.3. Material și metodă	80
4.4. Rezultate	81
4.5. Discuții	101
4.6. Concluzii	103
5. Studiul 3 – Statina în doză mare administrată înainte de angioplastia primară reduce stresul oxidativ, la pacienții cu infarct miocardic acut cu supradenivelare de segment ST	105
5.1. Introducere	105
5.2. Ipoteza de lucru	106
5.3. Material și metodă	106
5.4. Rezultate	106
5.5. Discuții	115
5.6. Concluzii	117
7. Concluzii generale	119
8. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	121
REFERINȚE	123

Cuvinte cheie: stres oxidativ, infarct miocardic acut, tratament endovascular, malondialdehidă, glutation, capacitatea antioxidantă totală

Introducere

Boala coronariană ischemică este o problemă de sănătate publică majoră, fiind principala cauză de dizabilități permanente sau de deces, în țările dezvoltate. Infarctul miocardic reprezintă un eveniment coronarian major, care cel mai adesea survine subit și poate avea consecințe devastatoare.

Principalul obiectiv, în situația unui infarct miocardic acut cu supradenivelare de segment ST (STEMI), este restabilirea cât mai precoce a fluxului sanguin, pentru a salva cât mai mult din masa miocardică. Angioplastia percutană primară (pPCI) joacă un rol central în gestionarea pacienților cu infarct miocardic acut, fiind terapia recomandată de ghidurile de diagnostic și tratament.

În teorie, aportul brusc de oxigen după tratamentul intervențional, la un țesut care anterior a trecut printr-o perioadă de ischemie, asigură premisele ideale pentru formarea speciilor reactive de oxigen. Astfel, este creat mediul propice pentru fenomenul denumit injurie miocardică de reperfuzie (IRI), care, în mod paradoxal, poate amplifica efectele nefavorabile ale infarctului. Inclusiv, s-a demonstrat o verigă patogenetică între stresul oxidativ și aritmiile ventriculare maligne, care aduc un prognostic nefast în contextul infarctului miocardic acut.

Mecanismul IRI nu este deplin înțeles, fiind cel mai probabil multifactorial: inflamație, stres oxidativ, obstrucție microvasculară și peroxidare lipidică.

Majoritatea studiilor care au evaluat rolul stresului oxidativ în infarctul miocardic acut au fost realizate pe animale sau în perioada în care tratamentul modern și eficient al infarctului miocardic acut nu era disponibil pe scară largă.

Statinele au un rol central în prevenția secundară post-infarct. Efectul favorabil depinde, în mare parte, de capacitatea statinelor de a scădea colesterolul. Totuși, statinele au efecte pleiotropice importante, cum ar fi reducerea stresului oxidativ, inhibarea biomarkerilor proinflamatorii și creșterea producției de oxid nitric. Astfel, statinele pot avea un efect antioxidant important.

Pornind de la aceste premise, mi-am propus determinarea, în dinamică, a parametrilor de stres oxidativ la pacienți internați cu infarct miocardic acut și tratați prin mijloace moderne, percutanate. Cred că dozarea markerilor de stres oxidativ în dinamică, înainte și după angioplastie, permite o caracterizare mai acurată a fenomenului de IRI.

Pentru o caracterizare cât mai completă am dozat mai mulți markeri ai stresului oxidativ, fiecare în parte legat de o anumită verigă patogenetică precum: peroxidarea lipidică, mecanismele de apărare non-enzimatică și capacitatea de a dona ioni de hidrogen pentru a neutraliza radicalii liberi.

De asemenea, mi-am propus să identific factorii anatomici, clinici și paraclinici care ar putea influența formarea speciilor reactive de oxigen.

Nu în ultimul rând, am dorit să identific dacă administrarea cât mai precoce a statinelor influențează parametrii de stres oxidativ. Menționez că administrarea de statine face parte din schema de tratament folosită în mod curent și recomandată de ghidurile internaționale în vigoare.

Ipoteza de lucru

Scopul general al tezei doctorale a fost evaluarea rolului stresului oxidativ la o populație de pacienți cu STEMI, care au fost tratați intervențional prin angioplastie cu stent farmacologic activ.

Teza doctorală este compusă din trei studii individuale, după cum urmează:

1. Obiectivul primului studiului a fost determinarea, în dinamică, a markerilor de stres oxidativ, la o populație de pacienți cu STEMI, tratați prin pPCI. De asemenea, s-a analizat prezența factorilor de risc cardiovascular, în funcție de sex și de categoria de vârstă. În plus, s-a analizat relația parametrilor de stres oxidativ cu timpul scurs de la debutul simptomelor până în momentul reperfuziei miocardice.
2. Al doilea studiu, a analizat dinamica parametrilor de stres oxidativ în funcție de caracteristicile anatomice ale afectării coronariene la pacienții incluși în studiu. Lotul general a fost împărțit în subgrupuri, în funcție de vasul responsabil de infarct. De asemenea, s-a analizat relația parametrilor de stres oxidativ cu scorul prognostic SYNTAX-II (SS-II) care, recent, s-a validat și în context de sindrom coronarian acut.
3. Ultimul studiu a evaluat efectul administrării de statine, înainte de revascularizarea miocardică, asupra dinamicii markerilor de stres oxidativ, la pacienții cu STEMI. Lotul general de pacienți a fost împărțit în două subgrupuri: pacienții care au primit statină și lotul martor. S-a comparat evoluția parametrilor de stres oxidativ între cele două subgrupuri formate.

Metodologie general

Protocol general

Studiul doctoral a inclus un lot alcătuit din 42 de pacienți, internați pe Secția de Cardiologie Intervențională a Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj cu diagnosticul de STEMI, în perioada aprilie 2017 - decembrie 2017. După ce s-au aplicat criteriile de excludere, 37 de pacienți au fost incluși în analiza statistică. Tuturor pacienților li s-a efectuat coronarografie în urgență, iar pPCI s-a realizat doar pe vasul responsabil de infarct (vas culprīt), chiar dacă pacienții aveau leziuni (stabile) pe alte artere coronare. Toate angioplastiile au fost realizate prin implantarea unor stenturi farmacologic

active (substanța activă: sirolimus sau everolimus) de generație nouă. S-au recoltat trei probe de sânge venos periferic (din vena cubitală) de la fiecare pacient, notate după cum urmează: P₀ - înainte de revascularizare; P₁ - la 1 oră după reperfuzie și P₂₄ - la 24 de ore după deobstrucția coronariană. Din probele rezultate s-au dozat: concentrația malondialdehidei (MDA) serice, glutatiunul redus (GSH), glutatiunul oxidat (GSSG), raportul glutatiun redus / glutatiun oxidat (GSH/GSSG) și capacitatea antioxidantă totală (TAC). Măsurătorile au fost realizate la Laboratorul de Stres Oxidativ din cadrul Catedrei de Fiziologie a Universității de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca.

Analiza statistică

Culegerea și organizarea datelor a fost realizată cu ajutorul programului Office Excel (Microsoft, SUA), iar analiza statistică s-a efectuat folosind programul SPSS v25 (IBM, SUA). Testul Shapiro-Wilk a fost folosit pentru a evalua dacă datele obținute au o distribuție normală. Datele cantitative normal distribuite au fost prezentate ca medie ± deviație standard (SD), iar cele fără distribuție normală au fost prezentate ca mediană împreună cu intervalul cuprins între percentila 25 și 75. Pentru a studia variația MDA și a TAC s-a folosit testul t pentru probe pereche, iar pentru analiza GSH, GSSG și a raportului GSH/GSSG s-a folosit testul Wilcoxon Signed Ranks pentru probe pereche. Testul Mann-Whitney U a fost folosit pentru analiza markerilor de stres oxidativ obținuți din eșantioane independente, subgrupurile formate în funcție de vasul responsabil de infarct, scorul SS-II sau prezența tratamentului cu statină. Pentru a analiza corelația dintre markerii de stres oxidativ și alte elemente clinice sau paraclinice s-a folosit coeficientul de corelație Spearman. Pragul de semnificație a fost stabilit la p≤0,05. Valorile ne semnificative au fost notate cu NS.

Studiul 1. Markerii de stres oxidativ în infarctul miocardic acut cu supradenivelare de segment ST, tratat prin angioplastie coronariană primară

Scop. Obiectivul studiului a fost determinarea, în dinamică, a parametrilor de stres oxidativ, la pacienți cu STEMI, tratați prin pPCI. În plus, s-a dorit analiza relației parametrilor de stres oxidativ cu timpul scurs de la debutul simptomelor, până în momentul reperfuziei miocardice.

Material și metodă. În acest studiu au fost incluși 37 de pacienți cu STEMI, tratați de urgență prin pPCI, imediat după internare. Pacienții incluși în studiu, au avut o vârstă medie de 63 ± 11 ani, iar 24 de pacienți au fost de sex masculin. Pentru fiecare pacient s-a calculat timpul total de ischemie, de la debutul simptomelor până la deobstrucția arterei coronare. S-au determinat următorii parametri de stres oxidativ: MDA, GSH, GSSG, raportul GSH/GSSG și TAC. Probele biologice s-au recoltat la 3

intervale temporale diferite: primul înainte de reperfuzie (P_0), la 1 oră (P_1) și la 24 de ore după angioplastie (P_{24}).

Rezultate. Vârsta medie, la pacienții de sex masculin, a fost $60,5 \pm 10,5$ ani, iar la femeii a fost $69,4 \pm 10,2$ ani, $p=0,01$. Vârsta medie în grupul de pacienți fumători a fost $59 \pm 9,3$ ani, iar la pacienții nefumători a fost $66,2 \pm 11,4$ ani, $p=0,08$. MDA, la prima determinare (P_0), a fost $3,1 \pm 0,96$ nmol/ml. La o oră după reperfuzie (P_1), MDA a scăzut semnificativ: $2,68 \pm 0,81$ nmol/ml, $p<0,01$. De asemenea, MDA a continuat să scadă și la P_{24} : $2,15 \pm 0,95$ nmol/ml, $p<0,01$. De asemenea, raportul GSH/GSSG a scăzut semnificativ în dinamică: $3,25$ ($2,17-5,19$) la P_0 , $2,33$ ($1,53-2,82$), $p<0,01$ la P_1 , respectiv $1,96$ ($1,28-2,85$), $p<0,01$ la P_{24} . TAC nu a avut variații semnificative la cele 3 determinări. Nu s-au identificat corelații între markerii de stres oxidativ și timpul total de ischemie.

Concluzii. La pacienții cu STEMI, scăderea raportului GSH/GSSG imediat după reperfuzie sugerează creșterea stresului oxidativ și este un posibil marker al IRI. Cu toate acestea, scăderea concentrației MDA serice după reperfuzie sugerează un stres oxidativ scăzut după pPCI. TAC nu a avut variații semnificative la cele 3 determinări. Nu s-au găsit corelații între timpul total de ischemie și parametrii de stres oxidativ determinați în dinamică. Pacienții de sex masculin suferă de STEMI aproximativ cu o decadă mai repede decât pacienții de sex feminin. Pacienții fumători suferă de STEMI în medie cu 7 ani mai devreme decât pacienții nefumători.

Studiul 2. Corelații între anatomia coronariană și markerii de stres oxidativ, la pacienți cu infarct miocardic acut cu supradenivelare de segment ST, revascularizat prin angioplastie coronariană primară

Scop. Scopul acestei lucrări a fost identificarea unor posibile corelații între vasul responsabil de infarct (vasul culprit), scorul SS-II și markerii de stres oxidativ măsurați în dinamică, la pacienți cu STEMI, revascularizați prin pPCI.

Material și metodă. În acest studiu au fost incluși 37 de pacienți cu STEMI, tratați de urgență prin pPCI, imediat după internare. Imaginile rezultate în urma angioplastiei au fost analizate de doi medici primari cu experiență în domeniul cardiologiei intervenționale care au calculat, în mod independent, scorul SS-II, folosind calculatorul disponibil online: www.syntaxscore.com. S-a calculat scorul SS-II pentru fiecare pacient inclus în studiu. S-au recoltat trei probe biologice diferite: înainte de reperfuzie (P_0), la 1 oră (P_1) și la 24 de ore după angioplastia reușită (P_{24}). La fiecare recoltare s-au dozat următorii markeri de stres oxidativ: MDA, GSH, GSSG, raportul GSH/GSSG și TAC. Lotul a fost împărțit în mai multe sub-grupuri: sub-grupul IVA și sub-grupul NON IVA, în funcție de vasul responsabil de infarct; și sub-grupul $SS-II \leq 34$ și sub-grupul $SS-II > 34$, în funcție de valoarea calculată a SS-II.

Rezultate. Au fost incluși 37 de pacienți. IVA a fost vasul culprit pentru 18 pacienți, ACx pentru 10 pacienți și ACD pentru 9 pacienți. Durata de spitalizare a fost semnificativ mai lungă la pacienții care au avut IVA culprit. Astfel, grupul IVA a avut $6,44 \pm 4,23$ zile de spitalizare, comparativ cu grupul NON IVA care a avut $3,47 \pm 1,21$ zile de spitalizare, $p=0,003$. În grupul IVA s-au înregistrat valori ne semnificativ mai mici ale TAC, la P_0 : $31,64 \pm 5,22$ % de inhibiție, comparativ cu $33,69 \pm 4,39$ % de inhibiție în grupul NON IVA, $p=0,15$. În schimb, la P_1 , TAC a fost semnificativ mai scăzută în grupul IVA: $29,97 \pm 7,11$ % de inhibiție, comparativ cu $34,07 \pm 5,10$ % de inhibiție, $p=0,019$. De asemenea, la P_{24} , TAC a fost semnificativ mai redusă în grupul IVA: $30,22 \pm 9,78$ % de inhibiție, comparativ cu $35,7 \pm 5,78$ % de inhibiție, $p=0,013$. MDA și raportul GSH/GSSG nu au fost influențați de vasul culprit. Dinamica markerilor de stres oxidativ a fost similară între grupul IVA și NON IVA. Valoarea mediană a SS-II, pentru întregul lot studiat, a fost 28,1 (20,65-41,1). Pacienții cu $SS-II \leq 34$ au fost semnificativ mai tineri decât pacienții din grupul $SS-II > 34$, $p < 0,001$. În grupul $SS-II > 34$, IVA a fost cel mai frecvent vasul responsabil de infarct (71,5%), iar în grupul $SS-II \leq 34$ a fost o distribuție egală între cele trei vase. Pacienții din grupul $SS-II \leq 34$ au avut, în medie, $3,56 \pm 1,23$ zile de spitalizare, semnificativ mai puține decât pacienții incluși în grupul $SS-II > 34$, care au avut $7,14 \pm 4,53$ zile de spitalizare, $p=0,005$. Markerii de stres oxidativ au fost similari la pacienții cu scor SS-II mic, comparativ cu pacienții cu scor SS-II mare.

Concluzii. TAC a fost semnificativ mai redusă la pacienții care au suferit un infarct în teritoriul IVA, comparativ cu celelalte teritorii vasculare. Acest fapt sugerează stres oxidativ crescut, după revascularizare, la pacienții care suferă un infarct miocardic anterior. Dinamica markerilor de stres oxidativ nu este influențată semnificativ de tipul vasului implicat în infarct sau de scorul SS-II.

Studiul 3. Statina în doză mare administrată înainte de angioplastia primară reduce stresul oxidativ, la pacienții cu infarct miocardic acut cu supradenivelare de segment ST

Scop. Acest studiu a evaluat efectul administrării de statine, înainte de pPCI, asupra markerilor de stres oxidativ, la un lot de pacienți cu STEMI tratați invaziv.

Material și metodă. În acest studiu au fost incluși 37 de pacienți cu STEMI, tratați de urgență prin pPCI. Pacienții care au primit statină în doză mare (în prespital sau în Unitatea de Primiri Urgențe) de pPCI au fost incluși în grupul-statină. Pacienții care nu au primit statină înainte de revascularizare și nu urmau tratament cronic cu statină, au fost incluși în grupul-control. Toți pacienții au primit statină în doză mare în primele 24 de ore după pPCI. S-au determinat următorii parametri de stres oxidativ din plasmă: MDA, GSH, GSSG, raportul GSH/GSSG și TAC. Probele biologice s-au

recoltat, pentru ambele grupuri, la 3 intervale temporale diferite: primul înainte de reperfuzie (P₀), la 1 oră (P₁) și la 24 de ore după angioplastie (P₂₄).

Rezultate. Au primit atorvastatină 80 mg 13 pacienți, 2 pacienți au primit atorvastatină 40 mg, 2 pacienți au primit simvastatină 40 mg și un singur pacient a primit rosuvastatină 20 mg. Nu au fost diferențe semnificative între grupul-statină și grupul-control în ceea ce privește MDA și TAC, la toate cele 3 determinări. Înainte de angioplastie, raportul GSH/GSSG a fost comparabil între cele două grupuri: 3,59 (2,13-5,37) în grupul-statină, respectiv 2,69 (2,15-5,02) în grupul-control, p=NS. La o oră după reperfuzie (P₁), valorile raportului GSH/GSSG au fost, de asemenea, comparabile: 2,26 (1,32-4,28) în grupul-statină, respectiv 2,33 (1,88-2,5) în grupul-control, p=NS. În schimb, la ultima determinare (P₂₄), raportul GSH/GSSG a fost semnificativ mai crescut în grupul-statină, comparativ cu grupul-control: 2,41 (1,58-3,28) vs 1,56 (1,12-2,03), p=0,01.

Concluzii. La pacienții cu STEMI, administrarea de statină în doză mare, înainte de pPCI, a redus semnificativ stresul oxidativ indus de reperfuzie, fapt reflectat de creșterea raportului GSH/GSSG la 24 de ore după revascularizare. În studiul de față, administrarea de statină nu a influențat markerii de stres oxidativ precum MDA sau TAC.

PhD THESIS - ABSTRACT

The Role of Oxidative Stress in Interventionally Treated Acute Myocardial Infarction

Doctorand **Dan-Alexandru Tătaru**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Remus Orăsan**



UMF

UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CLUJ-NAPOCA 2019

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	15
STATE OF THE ART	
1. Oxidative Stress	19
1.1. Definition	19
1.2. Superoxide Anion	20
1.3. Other Free Radical Species	23
2. Antioxidant Defense	25
2.1. Antioxidant Enzymes	25
2.2. Non-enzymatic Defense	26
3. Oxidative Stress Markers Measurement	29
3.1. Peroxidation Products	29
3.2. Protein Degradation Products	29
3.3. Gluthation	29
3.4. Total Antioxidant Capacity	30
4. Oxidative Stress and Cardiovascular Risk Factors	33
4.1. Hypertension	33
4.2. Diabetes Mellitus	34
4.3. Dyslipidemia	34
4.4. Smoker Status	35
4.5. The Atherosclerotic Plaque	35
5. Acute ST-elevation Myocardial Infarction	37
5.1. Definition	37
5.2. Specific ECG Changes	37
5.3. Epidemiology	37
5.4. Antithrombotic Treatment	38
5.5. Coronary Angioplasty	39
5.6. Thrombolysis	40
5.7. Microvascular Obstruction and Reperfusion Injury	41
5.8. Statins and Acute Myocardial Infarction	41
5.9. ACE-inhibitors and Acute Myocardial Infarction	42
6. Myocardial Reperfusion Injury	43
6.1. Introduction	43
6.2. Definition	43
6.3. Clinical Effects	43
6.4. Pathogenesis	44

6.5. Ischemic Preconditioning	48
6.6. Ischemic Postconditioning	48
6.7. Clinical Applications	49
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. Objectives	53
2. General Methodology	55
3. First Study - OXIDATIVE STRESS MARKERS IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION TREATED BY PRIMARY PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION	61
3.1. Introduction	61
3.2. Objectives	61
3.3. Materials and Method	62
3.4. Results	62
3.5. Discussion	76
3.6. Conclusion	78
4. Second Study - CORRELATIONS BETWEEN CORONARY ANATOMY AND OXIDATIVE STRESS MARKERS, IN PATIENTS WITH ACUTE ST-ELEVATION MYOCARDIAL INFARCTION, TRATED BY PRIMARY PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION	79
4.1. Introduction	79
4.2. Objectives	80
4.3. Materials and Method	80
4.4. Results	81
4.5. Discussion	101
4.6. Conclusion	103
5. Third Study - HIGH-DOSE STATIN PRIOR TO PRIMARY PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION REDUCES OXIDATIVE STRESS BURDEN IN PATIENTS WITH ACUTE ST-ELEVATION MYOCARDIAL INFARCTION	105
5.1. Introduction	105
5.2. Objectives	106
5.3. Materials and Method	106
5.4. Results	106
5.5. Discussion	115
5.6. Conclusion	117
7. General Conclusions	119
8. Originality and Innovative Contributions of the Thesis	121
REFERENCES	123

Key words: oxidative stress, acute myocardial infarction, percutaneous coronary intervention, malondialdehyde, glutathione, total antioxidant capacity

Introduction

Cardiovascular diseases are the leading cause of mortality and morbidity worldwide. Acute ST-elevation myocardial infarction (STEMI) is associated with total coronary occlusion and subsequent myocardial necrosis. The principal objective of therapy is rapid restoration of coronary blood flow to save as much heart muscle as possible. According to current evidence-based guidelines, primary percutaneous coronary intervention (PCI) is the best method of vessel opening. However, a sudden restoration of blood supply, to a previously ischemic myocardium, can lead to myocardial reperfusion injury (IRI) and increased oxidative stress that can paradoxically reduce the beneficial effect of angioplasty.

The mechanism of IRI is not fully understood and is probably multifactorial: inflammation, oxidative stress, microvascular obstruction and lipid peroxidation.

Statins are lipid-lowering drugs that inhibit cholesterol biosynthesis via down-regulation of HMG-CoA reductase. Large secondary prevention trials showed that statins lower the rate of myocardial infarction, ischemic stroke and cardiovascular death. The favourable effect on cardiovascular events depends mostly on the cholesterol lowering function and plaque stabilization, but statins have important pleiotropic effects, like increased nitric oxide production, reduced oxidative stress generation and down-regulation of proinflammatory biomarkers. Overall, statins can have an antioxidant effect, early after administration.

Following these ideas, I determined the dynamics of oxidative stress markers before and after PCI in patients with STEMI. I chose markers related to lipid peroxidation, non-enzymatic defense and hydrogen donor for free radical neutralization. Also, I searched for anatomical, clinical and paraclinical factors which could influence the formation of reactive oxygen species.

Among patients with STEMI, the current guidelines recommend routine administration of high-dose statin [2,3]. However, the ideal timing of statin initiation, in the acute setting, is not stated. Recent data showed that, in STEMI patients, high-dose statin administration before pPCI significantly reduced 30-day major adverse cardiac events (MACE) [9]. The mechanisms leading to the benefit remain uncertain.

Objectives

The general aim of the PhD thesis was to evaluate the role of the oxidative stress in a STEMI population, treated with PCI.

The PhD thesis has 3 individual studies:

1. The aim of the first study was to determine the dynamics of oxidative stress markers in patients with STEMI treated by PCI. Also, it analysed the presence of cardiovascular risk factors and searched for correlations between time from symptom-onset and oxidative stress markers.
2. The second study analysed the dynamics of oxidative stress markers in relation to the culprit vessel and the prognostic SYNTAX II score (SS-II)
3. The third study evaluated the effect of high-dose statin loading prior to primary percutaneous coronary intervention on oxidative stress markers, in patients with STEMI.

General Methodology

General Protocol

The PhD study included 42 patients admitted on the Interventional Cardiology Ward at the Emergency County Hospital in Cluj-Napoca, between April 2017 and December 2017. After exclusion criteria, only 37 patients entered statistical analysis. All patients received PCI with drug eluting stents on the culprit vessel. The blood samples were drawn at three different times: before PCI – P₀, one hour after PCI – P₁ and finally, 24 hours after PCI – P₂₄. The following oxidative stress markers were determined from the blood: malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG), GSH/GSSG ratio and total antioxidant capacity (TAC). All these samples were processed at the Oxidative Stress Laboratory, Physiology Department, “Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy.

Statistical Analysis

The statistical analysis was conducted using SPSS software v25 (IBM, USA). The Shapiro-Wilk test was used to assess for a normal distribution. Quantitative data without normal distribution was described using boxplots, median and the range between the 25th percentile and the 75th percentile. Normally distributed data was presented as mean ± standard deviation. The t-test for paired samples was used for normally distributed data and Wilcoxon Signed Ranks Test for not normally distributed. The Mann-Whitney U test was applied for non-normally distributed variables to check if there was a significant difference between the two independent samples. Correlation analysis was performed using Spearman’s correlation coefficient. A p-value equal to or lower than 0.05 was considered statistically significant.

First Study - OXIDATIVE STRESS MARKERS IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION TREATED BY PRIMARY PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION

Aim. The current study analysed the dynamics of oxidative stress markers in patients with STEMI treated by PCI.

Materials and Method. In this study 37 patients were included, with a mean age of 63 ± 11 years and 24 patients were male. For every patient, time from symptom-onset to vessel opening was calculated. MDA, GSH/GSSG ratio, and TAC were determined for each patient at 3 different time intervals: before angioplasty (P_0), at 1 hour after vessel opening (P_1) and at 24 hours (P_{24}).

Results. Mean age in male patients was $60,5 \pm 10,5$ years, compared to female patients $69,4 \pm 10,2$ years, $p=0,01$. Mean age in the smokers-group was $59 \pm 9,3$ years, compared to non-smokers, $66,2 \pm 11,4$ years, $p=0,08$. MDA was significantly lower at 1 hour (3.1 ± 0.96 nmol/ml vs 2.68 ± 0.81 nmol/ml, $p < 0.01$) and 24 hours (3.1 ± 0.96 nmol/ml vs 2.15 ± 0.95 nmol/ml, $p < 0.01$). Also, GSH/GSSG ratio dropped significantly at 1 hour, 3.25 ($2.17-5.19$) vs 2.33 ($1.53-2.82$), $p < 0.01$ and at 24 hours, 3.25 ($2.17-5.19$) vs 1.96 ($1.28-2.85$), $p < 0.01$. TAC had non-significant variation. There was no correlation between these markers and time from symptom-onset.

Conclusion. In STEMI patients, the decrease in GSH/GSSG ratio after PCI suggests increased oxidative stress and is a possible marker of myocardial reperfusion injury. However, the decrease in MDA levels immediately after vessel opening suggests low oxidative damage after PCI. There were no significant variations in TAC before and after PCI. No correlations between MDA, GSH/GSSG ratio, TAC and time from symptom-onset to reperfusion were observed. Male patients suffer STEMI 10 years earlier than female patients. Smokers suffer STEMI at a younger age.

Second Study - CORRELATIONS BETWEEN CORONARY ANATOMY AND OXIDATIVE STRESS MARKERS, IN PATIENTS WITH ACUTE ST-ELEVATION MYOCARDIAL INFARCTION, TRATED BY PRIMARY PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION

Aim. This study aimed to identify the possible correlations between oxidative stress markers and the culprit vessel, SS-II prognostic score, in STEMI patients treated with PCI.

Materials and method. 37 patients were included. SS-II score was calculated by two senior interventional specialists according to www.syntaxscore.com. MDA, GSH/GSSG ratio, and TAC were determined for each patient at 3 different time intervals: before angioplasty (P_0), at 1 hour after vessel opening (P_1) and at 24 hours (P_{24}). Four subgroups formed: IVA and NON IVA; $SS-II \leq 34$ and $SS-II > 34$.

Results. IVA was the culprit vessel in 18 patients, ACx in 10 patients and ACD in 9 patients. The mean hospitalization time was significantly longer in the IVA group! $6,44 \pm 4,23$ days vs $3,47 \pm 1,21$ days, $p=0.003$. TAC was significantly lower in the IVA group compared to the NON IVA group at P_1 and P_{24} , respectively (P_1 , 29.97 ± 7.11

inhibition % in the IVA group compared to 34.07 ± 5.10 inhibition % in the NON IVA group, $p=0.019$; P24, 30.22 ± 9.78 inhibition % in the IVA group compared to 35.7 ± 5.78 inhibition %, $p=0.013$). MDA and GSH/GSSG ratio were similar between the two groups. The median value of SS-II score was 28,1 (20,65-41,1). Patients with low SS-II score were significantly younger, $p<0.001$. IVA was the most common culprit vessel in the $SS>34$ group. Patients with low SS-II had 7.14 ± 4.53 days of hospitalization compared to patients with high SS-II score which had $3,56 \pm 1,23$ days, $p=0.005$. SS-II score did not have an influence on oxidative stress markers.

Conclusion. TAC was significantly lower in patients who had IVA as the culprit, vessel suggesting increased oxidative stress after reperfusion. The dynamics of oxidative markers was not influenced by the culprit vessel or the SS-II score.

Third Study - HIGH-DOSE STATIN PRIOR TO PRIMARY PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION REDUCES OXIDATIVE STRESS BURDEN IN PATIENTS WITH ACUTE ST-ELEVATION MYOCARDIAL INFARCTION

Aim. The current study analysed the effect of high-dose statin loading prior to primary percutaneous coronary intervention on oxidative stress markers, in patients with STEMI.

Materials and Method. In this study 37 patients were included. Patients which received high-dose statin in the Emergency Room, before transferring to the Catheterization Laboratory, were included in the statin group. Patients that did not receive statin before pPCI and were not on chronic statin therapy (statin naive) were included in the control group. All patients subsequently received statin therapy 24 hours after pPCI. MDA, GSH/GSSG ratio, and TAC were determined for each patient at 3 different time intervals: before angioplasty (P_0), at 1 hour after vessel opening (P_1) and at 24 hours (P_{24}).

Results. From a total of 37 patients, 18 patients received high-dose statin before coronarography and were included in the statin group, while 19 statin naive patients were included in the control group. Thirteen patients received 80 mg atorvastatin, 2 patients received 40 mg atorvastatin, 2 patients received 40 mg simvastatin and 1 patient received 20 mg rosuvastatin. MDA concentration and TAC had non-significant differences between the two groups, at all time frames. Before angioplasty, GSH/GSSG ratio was comparable between the two groups: 3.59 (2.13-5.37) in the statin group vs 2.69 (2.15-5.02) in the control group, $p=0.49$. At P_1 , values were still similar: 2.26 (1.32-4.28) in the statin group vs 2.33 (1.88-2.50) in the control group, $p=0.55$. After 24 hours, there was a significant increase of GSH/GSSG ratio in the statin group 2.41 (1.58-3.28) vs 1.56 (1.12-2.03) in the control group, $p=0.01$.

Conclusion. In STEMI patients, high-dose statin loading before PCI significantly reduces oxidative stress burden, early after administration. Statin loading did not influence MDA and TAC levels.