

**HOSSZÚ TÁVÚ, INTENZÍV ÁLLÓKÉPESSÉGI TRÉNING
SZÍVMORFOLÓGIÁRA ÉS A SZÍVIZOM ELEKTROMOS
TEVÉKENYSÉGÉRE KIFEJTETT HATÁSAINAK
VIZSGÁLATA NAGY ÁLLATKÍSÉRLETES
MODELLEKBEN**

Ph.D. disszertáció tézisei

Dr. Polyák Alexandra Júlia

Témavezető: Dr. Farkas Attila

Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

Belgyógyászati Klinika & Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Szegedi Tudományegyetem,

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar



Magyarország, Szeged

2023

PUBLIKÁLT KÖZLEMÉNYEK

Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények:

- I.) **A. Polyák***, L. Topal*, N. Zombori-Tóth, N. Tóth, J. Prorok, Zs. Kohajda, Sz. Déri, V. Demeter-Haludka, P. Hegyi, V. Venglovecz, G. Ágoston, Z. Husti, P. Gazdag, J. Szlovák, T. Árpádfy-Lovas, M. Naveed, A. Sarusi, N. Jost, L. Virág, N. Nagy, I. Baczkó, A. S. Farkas, A. Varró. Cardiac electrophysiological remodelling associated with enhanced arrhythmia susceptibility in a canine model of elite exercise.
Elife, 2023, doi: 10.7554/eLife.80710. (IF: 8.14, D1)
- I.) Péter Kui*, **Alexandra Polyák***, Nikolett Morvay, László Tizslavicz, Norbert Nagy, Balázs Ördög, Hedvig Takács, István Leprán, András Farkas, Julius Gy. Papp, Norbert Jost, András Varró, István Baczkó and Attila S. Farkas. Long-term endurance exercise training alters repolarization in a new rabbit athlete's heart model.
Frontiers in Physiology, 2022, doi: 10.3389/fphys.2021.741317. (IF: 4.566, Q2)
- I.) **Alexandra Polyák**, Péter Kui, Nikolett Morvay, István Leprán, Gergely Ágoston, Albert Varga, Norbert Nagy, István Baczkó, András Farkas, Julius Gy. Papp, András Varró and Attila S. Farkas. Long-term endurance training-induced cardiac adaptation in new rabbit and dog animal models of the human athlete's heart.
Reviews in Cardiovascular Medicine, 2018, doi: 10.31083/j.rcm.2018.04.4161. (IF: 2.93, Q3)
- II.) **Polyák Alexandra**, Kui Péter, Morvay Nikolett, Leprán István, Ágoston Gergely, Varga Albert, Baczkó István, Farkas András, Papp Gyula, Varró András, Farkas Attila. Hosszú időtartamú állóképességi tréning kardiovaszkuláris hatásainak vizsgálata nyúlban és kutyában. *Cardiologia Hungarica*, 2017, doi: <http://doi.org/10.26430/CHUNGARICA.2017.47.suG.40>

Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények

összesített impakt faktora: 15,636

További közlemények:

- II.)** L. Topal*, **A. Polyák***, N. Tóth, G. Ágoston, P. Bencsik, Zs. Kohajda, J. Prorok, Sz. Déri, N. Nagy, N. Jost, L. Virág, A.S. Farkas, A. Varró, and I. Baczkó. *Endurance training-induced cardiac remodeling in a guinea pig athlete's heart model*. CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY 100: 10 pp. 993-1004., 12 p. (2022) doi: dx.doi.org/10.1139/cjpp-2022-0073. (IF: 2.273, Q2)
- III.)** A.O. Verkerk, I.J. Dostpod, I. Mengarelli, T. Magyar, **A. Polyák**, B. Pászti, I.R. Efimov, R. Wilders, and I. Koncz. *Acetylcholine Reduces L-Type Calcium Current without Major Changes in Repolarization of Canine and Human Purkinje and Ventricular Tissue*. BIOMEDICINES 10: 11 Paper: 2987, 20 p. (2022) doi: doi.org/10.3390/biomedicines10112987. (IF: 5.612, Q2)
- IV.)** N. Tóth, A. Soós, A. Váradi, P. Hegyi, B. Tinusz, A. Vágvölgyi, A. Orosz, M. Solymár, **A. Polyák**, A. Varró, A.S. Farkas, N. Nagy. *Effect of ivabradine in heart failure: a meta-analysis of heart failure patients with reduced versus preserved ejection fraction*. CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY 99: 11 pp. 1159-1174., 16 p. (2021), doi: 10.1139/cjpp-2020-0700. (IF: 2.273, Q3)
- V.)** P. Gazdag, K. Oravecz, K. Acsai, V. Demeter-Haludka, B. Ördög, J. Szlovák, Zs. Kohajda, **A. Polyák**, B.A. Barta, A. Oláh, T. Radovits, B. Merkely, J.Gy. Papp, I. Baczkó, A. Varró, N. Nagy, and J. Prorok. *Increased Ca²⁺ content of the sarcoplasmic reticulum provides arrhythmogenic trigger source in swimming-induced rat athlete's heart model*. SCIENTIFIC REPORTS 10: 1 Paper: 19596, 13 p. (2020), doi: https://doi.org/10.1038/s41598-020-76496-2. (IF: 4.379, D1)
- VI.)** P. Orvos, B. Pászti, L. Topal, P. Gazdag, J. Prorok, **A. Polyák**, T. Kiss, E. Tóth-Molnár, B. Csupor-Löffler, Á. Bajtel, A. Varró, J. Hohmann, L. Virág, and D. Csupor. *The electrophysiological effect of cannabidiol on hERG current and in guinea-pig and rabbit cardiac preparations*. SCIENTIFIC REPORTS 10: 1 Paper: 16079, 9 p. (2020), doi: https://doi.org/10.1038/s41598-020-73165-2. (IF: 4.379, D1)

- VII.)** A. Regev, H. Takacs, A.S. Farkas, F. Rarosi, **A. Polyak**, H. Papp, E. Ivany, J.GY. Papp, A. Varro, A. Farkas. *Application of ventricular tachyarrhythmia definitions of the updated lambeth conventions provides incompatibility with earlier results, masks antifibrillatory activity and reduces inter-observer agreement.*
JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY 70: 1 pp. 37-49., 13 p.
(2019), doi: 10.26402/jpp.2019.1.03. (**IF: 3.011, Q2**)
- VIII.)** Papp Henriett, Sarusi Annamária, Farkas Attila, **Polyák Alexandra**, Papp Gyula, Varró András, Farkas András. *Repolarizációs tartalékszűkítésen alapuló új proaritmia-modell izolált tengerimalac-szívben.*
CARDIOLOGIA HUNGARICA 47: Suppl. G pp. G15-G21. 7 p. (2017),
doi: <http://doi.org/10.26430/CHUNGARICA.2017.47.suG.15>

Publikált közlemények száma: 11

Publikált közlemények összesített impakt faktora: 37,56

1. BEVEZETÉS

A rendszeres testmozgás kardiovaszkuláris előnyei vitathatatlanok, többek között jelentős mértékben javítja az általános egészségi állapotot és csökkenti a krónikus betegségek kialakulásának kockázatát. Ugyanakkor a fizikai aktivitás és a várható szív- és érrendszeri hatások közötti kapcsolatot modellező U alakú görbe azt mutatja, hogy míg az optimális szintű fizikai aktivitás számos előnnyel jár, az extrém intenzitású sporttevékenységek káros hatással lehetnek a szív- és érrendszeri egészségre. Ez az összefüggés kiemelten fontos a versenysportolók esetében, főleg abban az esetben, amikor akár még fel nem ismert kardiovaszkuláris alapterbetegségek mellett végzik az extrém megterheléssel járó sporttevékenységet. Következésképpen, a testmozgás előnyeinek és a lehetséges kockázatok egyensúlyának szempontjából a jelenleginél sokkal összetettebb megközelítésre van szükség.

Az élsportolók körében specifikus szívadaptációs változások figyelhetők meg, mint például a bal kamra méretében, falvastagságában, szívizomtömegében és volumenében tapasztalt növekedés, amely javítja a szív teljesítőképességét a fokozott igénybevételt igénylő aktivitás során. Ezek az adaptációs folyamatok a sporttevékenység típusától és gyakoriságától függően változnak, és a jelenlegi általánosan elfogadott vélemény szerint az edzés típusától függően "izometriás" és "izotóniás" kategóriákba sorolhatóak. Újabb kutatások azonban kimutatták, hogy a sportszív ennél jóval összetettebb geometriai mintázatokat mutat, ami további vizsgálatokat tesz szükségessé.

Az élsportolóknál a szív elektromos alkalmazkodása is megfigyelhető, úgymint a bradycardia és a szívfrekvencia-variabilitás növekedése, amely a vegetatív funkció indikátoraként ismert. A legújabb tanulmányok vitatják a jelenlegi ismereteket, amelyek szerint a bradycardia az élsportolóknál a vegetatív szabályozás megváltozásával áll kapcsolatban, és azt feltételezik, hogy inkább olyan specifikus tényezők befolyásolják, mint például a szívritmust szabályozó $I_{f(,funny)}$ csatorna) downregulációja. További kutatásokra van azonban szükség ezen eredmények megbízható igazolásához.

A sportolói hirtelen szívhalál (SCD, sudden cardiac death), bár szerencsére ritka, mégis gyakrabban fordul elő, mint az azonos korú nem sportolók körében. Az SCD gyakran strukturális és elektromos eltérésekkel hozható összefüggésbe, továbbá valószínűségét igazoltan befolyásolják olyan specifikus kockázati tényezők, mint a nemi különbségek, a rassz és a sportág típusa. Az "arrhythmia háromszög" fogalma szerint a szubsztrátok, a triggererek és az arrhythmia elősegítő modulátorok összetett kölcsönhatása teszi az egyéneket, és adott esetben a sportolókat fogékonyá az életveszélyes ritmuszavarokra. Továbbá egyéb tényezők,

köztük az örökletes szívritmuszavarok, az elektrolit-egyensúlyzavarok, a vegetatív idegrendszeri rendellenességek, bizonyos gyógyszerek és teljesítményfokozó szerek mind hozzájárulhatnak a sportolói arrhythmiák kialakulásához. A szívritmuszavarok efféle soktényezős megközelítése kérdésessé teszi azt az elképzelést, hogy a sportszív mindig az egészség modellje, és rámutat a sportszívben kialakuló adaptációs mechanizmusok kutatásának szükségességére.

A sportolással összefüggő SCD kutatása embereken gyakran kihívást jelent, celluláris szinten pedig szinte kivitelezhetetlen, ezért az alap kutatás szerepe ezen a területen kiemelkedően fontos. A közelmúltban végzett állatkísérletek különböző szívelektrofiziológiai változásokat mutattak ki nagy intenzitású terhelés hatására, beleértve a pitvarfibrillációt, a bradycardiát és a pitvar-kamrai csomó diszfunkcióját. Ezenkívül intenzív testmozgást követően fibrotikus elváltozásokat figyeltek meg a rágcsálók szívében, amelyek az arrhythmiák fokozott kockázatával járhatnak együtt. Fontos azonban megjegyezni, hogy a rágcsálókön végzett kísérletek csak korlátozott relevanciával bírnak a humán szívműködés modellezésében. Ezért kutatásunkban olyan nyúl és kutya állatmodelleket dolgoztunk ki, amelyekben a vizsgált változások jobban összehasonlíthatóak az emberi szívben bekövetkező változásokkal.

2. CÉLKITŰZÉS

A jelen vizsgálat célja olyan állatmodellek létrehozása és karakterizálása volt, amelyek jól modellezik a humán szív élettani sajátosságait. Elsődleges célkitűzésünk az volt, hogy mélyebb ismereteket szerezzünk a hosszan tartó, intenzív fizikai terhelés szív morfológiára és szívműködésre gyakorolt élettani hatásairól. Emellett kiemelt figyelmet fordítottunk a szívizom szerkezetében és funkciójában végbemenő potenciálisan káros átalakulások, valamint a fokozott arrhythmia érzékenység vizsgálatára, mind *in vivo*, mind *ex vivo* körülmények között.

A kutatás fő célkitűzései a következők:

- I. A hosszan tartó, intenzív fizikai terhelés által kiváltott összetett szívelektrofiziológiai változások megértése a humán szívhez nagyon hasonló elektrofiziológiai tulajdonságokkal rendelkező, nem-rágcsáló fajokban.
- II. A hosszan tartó, intenzív fizikai terhelés által kiváltott potenciálisan káros szív morfológiai és funkcionális változások vizsgálata.
- III. A fokozott arrhythmias érzékenység vizsgálata hosszan tartó, intenzív fizikai terhelést követően *in vivo* és *ex vivo* körülmények között.

IV. A krónikus szteroid kezelés hatásainak vizsgálata a szív morfológiájára és funkciójára hosszan tartó, intenzív fizikai terhelésnek kitett állatokban.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 Általános módszerek, kísérleti elrendezés és edzési protokollok

Az állatok gondozását és a vizsgálatokat a „Nemzeti Egészségügyi Intézetek útmutatója a laboratóriumi állatok gondozásáról és felhasználásáról (USA, 2011)” szerint végeztük. Az állatokkal végzett valamennyi beavatkozás a Szegedi Tudományegyetem Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága (jóváhagyási számok: I-74-15-2017 és I-74-24-2017) és a Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium Állategészségügyi és Élelmiszer-ellenőrzési Főosztálya (hatósági engedélyszám: XIII/3330/2017 és XIII/3331/2017) által jóváhagyott, és a 2010/63/EU irányelv szabályainak és elveinek megfelelő.

Az első kísérletsorozatunkban új-zélandi fehér nyulakat (11 hónapos, 3,5-4,0 kg) és keverék kutyákat (12-18 hónapos, 7,0-7,5 kg) mindkét nemből véletlenszerűen osztottunk „kontroll” (SED) és „futó” (EX) csoportba. Egy „dopping” (DOP) kutya csoport az edzésprogram mellett tesztoszteron-undekanoát kezelést is kapott. Második kísérletsorozatunkban beagle kutyákat (mindkét nem, 9-15 kg) „kontroll” (SED) és „sportoló” (TRN) csoportokra osztottunk. Az állatok mindegyik vizsgálati csoportban 16 hetes edzésprogramban részesültek. Az edzésprogram változatos futógyakorlatokból állt, ellenőrzött intenzitás szinteken. A futógyakorlatokat mindkét fajnál egy egyedi futópad-rendszer segítségével végeztük.

3.2 Szívvultrahang vizsgálatok

Mind a nyulaknál, mind a kutyáknál számos szívparamétert mértünk kétdimenziós M-módú és Doppler M- módú echokardiográfia segítségével. Megmértük a bal pitvari térfogatot (LAV), a bal pitvari térfogatindexet (LAV_i), a bal kamrai végszisztolés és végdiasztolés átmérőket (LVESD és LVEDD), a kamrafal vastagságot (bal kamra hátsó fal, LVPW és a kamrai septum, IVS), a bal kamra tömegét (LVM) és a bal kamrai tömegindexet (LVM_i). Az ejekciós frakciót (EF) a Teicholz-formula szerint határoztuk meg.

3.3 Elektrokardiográfiás mérések

Az EKG-méréseket nyulakon és kutyákon is elvégeztük, a két faj esetében eltérő módszerekkel. Az egyes EKG-intervallumok hosszát, úgymint RR, PQ, QRS, QT és $T_{peak}-T_{end}$ (T_pT_e) szakaszok, a rögzített szinusz ütésekkel határoztuk meg. A szívfrekvenciát az RR-intervallumokból származtattuk. A szívfrekvenciával korrigált QT-intervallumot (QT_c) a

szívfrekvencia befolyásának megszüntetéséhez számoltuk ki. Az RR- és QT-intervallumok ütésről ütésre történő variabilitását és instabilitását is meghatároztuk. Az arrhythmia incidenciáját az elfogadott arrhythmia definíciók alapján értékeltük. Éber kutyákban megvizsgáltuk a szívfrekvencia-választ az atropin nevű paraszimpolitikus szerre. Emellett éber kutyákban dofetilidet, egy Vaughan-Williams III. osztályú antiarrhythmias szert alkalmaztunk, hogy felmérjük annak QT-intervallumot megnyújtó és proarrhythmias érzékenységet fokozó potenciálját.

3.4 Arrhythmia provokációs kísérletek, nyitott mellkasú, altatott kutyákon

Pentobarbitál-anesztézia mellett vizsgáltuk a kamrai arrhythmiaakra való érzékenységet a bal karma felől epicardialisan alkalmazott, egymást követő, változó időtartamú, kamrai burst stimuláció során. A kiváltott ritmuszavarok incidenciáját összehasonlítottuk a kontroll és az edzett csoportok között, lehetővé téve a tréningprogramra adott válaszként létrejövő arrhythmia érzékenység vizsgálatát.

3.5 Konvencionális mikroelektrod technikák kutyaszívben

Intenzíven edzett és kontroll kutyaszív bal kamrai papillaris izom preparátumokban konvencionális mikroelektrod technikák segítségével akciós potenciálokat regisztráltunk.

3.6 Patch-clamp mérések kutyaszívben

A kamrai szívizomsejteket enzimatikusan izoláltuk, és a következő ionáramokat rögzítettük: L-típusú kalciumáram (I_{CaL}), a befelé egyenirányító (I_{K1}), a tranziensnt kifelé irányuló (I_{to}), a gyors (I_{Kr}), a lassú (I_{Ks}) késői egyenirányító káliumáramok, a késői nátriumáram (I_{NaL}), és a Na^+/Ca^{2+} -cserélő áram (I_{NCX}). Az sejtek akciós potenciálokat perforált patch-clamp technikával mértük edzett és kontroll kutyák izolált bal kamrai szívizomsejtjeiben. Az akciós potenciál időtartamát 90 %-os repolarizációnál mértük (APD_{90}), majd kiszámítottuk a rövid távú APD-variabilitást (STV-APD) 30 egymást követő akciós potenciál alapján.

3.7 KChIP2 és Kv4.3 fehérjék Western blot analízise kutyaszívben

Kutya bal kamrai szívizomzatból származó membránfrakciókat vizsgáltunk KChIP2 és Kv4.3 fehérjékre vonatkozóan. A sávok (band) optikai denzitását az immunjelölés után mértük.

3.8 A KChIP2, a Kv4.3, valamint a HCN1, HCN2 és HCN4 fehérjék immuncitokémiai vizsgálata kutyaszívben

Szívizomsejteket izoláltunk edzett (TRN) és kontroll (SED) kutyák bal kamrai szövetéből, és immunfestést végeztünk KChIP2, Kv4.3, HCN1, HCN2 és HCN4 fehérjékre. A

felvételeket konfokális lézeres pásztázó mikroszkóp segítségével rögzítettük, majd kvantitatív elemzéseket végeztünk.

3.9 Fibrózis marker génexpresszió vizsgálata nyúlszívekben valós idejű qRT-PCR technika segítségével

Az RNS extrakciót edzett és kontroll nyulak bal kamrai szabadfali mintáiból végeztük. Valós idejű PCR technikát alkalmaztunk a fibrotikus biomarkereket kódoló gének, köztük a TGF- β , FN-1, COL1A1, COL3A1, MMP-2 és TIMP-1 expressziós szintjének vizsgálatára.

4. EREDMÉNYEK

4.1 A hosszan tartó terhelés által kiváltott szívizom hypertrophia és fibrózis

A 16 hetes edzésprogram minden kísérletsorozatban jelentős szívadaptációt eredményezett, de a legkifejezettebb változásokat az erőteljesebb edzésben részesült kutyáknál tapasztaltuk. Kísérleteink első felében az állóképességi edzés mind a nyulaknál, mind a kutyáknál a bal kamra dilatációjához vezetett, a kamra falvastagságának egyidejű növekedése nélkül. Az ejekciós frakció és a frakcionált rövidülés nem különbözött érdemben a csoportok között, továbbá a szteroid szív-morfológiai hatása nem volt kimutatható. A 16 hetes erőteljesebb állóképességi edzést követően, a TRN kutyáknál, a bal pitvar tágulása és bal kamra hypertrophia is megjelent. Nőtt továbbá a bal kamra végdiasztolés térfogata is, ami azt jelzi, hogy a bal kamra több vért képes tárolni a telődési fázisban. Az edzett kutyák szívének autopszia eredményei megerősítették a szívizom hypertrophiáját, valamint fokozott bal kamrai fibrózist mutattak, amely összhangban áll az edzett nyúlszívek relatív génexpressziós eredményeivel.

4.2 Az edzés hatása a szívfrekvenciára és annak variabilitására éber kutyákban és nyulakban, valamint a spontán frekvenciára kutyák izolált jobb pitvari szövetpreparátumaiban

Az első kísérletsorozatunkban mind az edzett kutyáknál, mind a nyulaknál hosszabb átlagos RR-intervallumokat mértünk, ami a terhelés által kiváltott bradycardiára utal. Továbbá, az ütésről ütésre mért emelkedett szívfrekvencia-variabilitás paraméterek a vagus tónus fokozódására utaltak. A második kísérletsorozat erősen edzett kutyáiban valamennyi eredmény még kifejezettebb volt. Izolált jobb pitvari szövetekben azonban az intrinsic ütésszámok vizsgálata az edzett kutyákban a bradycardia jelenlétét mutatta, a vagus hatástól függetlenül. Az edzett állatoknál paraszimpatolitikum beadása után megfigyelt mérsékelt szívfrekvencia-emelkedés összhangban volt az *in vitro* spontán szívfrekvencia-mérések eredményeivel.

4.3 EKG-eltérések és fokozott proarrhythmias válasz hosszú távú tartós terhelést követően

Az első kísérletsorozatban a nyulakon és a kutyákon végzett edzésprogramok nem okoztak lényeges változásokat a depolarizációs PQ és QRS intervallumokban, sem a QT_c intervallumokban. Az edzett nyulaknál megfigyeltünk egy kismértékű növekedést a QT-szakasz ütésről-ütésre történő variabilitásában, kutyák esetében ez nem volt tapasztalható. Azonban az intenzíven edzett kutyákban az RR-, PQ-, QT-, QT_c- és T_pT_e-intervallumok jelentős megnyúlását és a QRS-komplexum kiszélesedését figyeltük meg. A megnyúlt QT-intervallum fokozott QT-intervallum-variabilitással (STV-QT) társult, ami a kontroll csoporttal összehasonlítva nagyobb repolarizációs diszperzióra utal. Továbbá, az intenzíven kutyáknál a nyugalmi EKG felvételeken gyakrabban fordultak elő kamrai eredetű ütések, beleértve a kamrai escape-üteket és a korai kamrai üteket is. Nyitott mellkasú, altatott kutyákban végzett elektromos burst stimuláció során az edzett kutyáknál gyakrabban jelentkezett kamrafibrilláció, mint a kontroll csoportban.

4.4 A repolarizációs érzékenység és a dofetilid proarrhythmias hatásának vizsgálata éber kutyákban

A sportszív repolarizációs érzékenységének vizsgálatához a 16 hetes edzésprogramot követően dofetilidet, egy specifikus I_{Kr}-csatorna gátló anyagot adtunk mind a terheléses (EX, DOP és SED csoportok), mind az intenzív edzés (TRN és SED csoportok) protokollban részesített kutyáknak. A dofetilid jelentősen megnövelte a QT_c intervallumot minden csoportban, kifejezettebb hatást mutatva az edzett állatoknál. A QT_c-intervallumok hosszában nem volt jelentős különbség az edzett (EX) és a doppingolt (DOP) csoportok között. A kezdeti és a dofetilid utáni értékekből számított QT_c- megnyúlás százalékos aránya nem különbözött jelentősen a csoportok között, ami azt jelzi, hogy az edzés és a dofetilid additív hatást gyakorolt a QT_c szakasz megnyúlására, szuperadditív hatás nélkül. A dofetilid kezelés minden csoportban fokozta az ütésről ütésre történő variabilitási és instabilitási paramétereket, az intenzíven edzett állatokban még kifejezettebb repolarizációs inhomogenitás volt tapasztalható. Bár a kevésbé intenzíven edzett kutyáknál a dofetilid perfúzió során előfordultak korai kamrai ütések, a csoportok között nem láttunk szignifikáns különbségeket. Az intenzíven edzett kutyákban azonban megnőtt a kamrai ütések gyakorisága, és összetettebb arrhythmia is előfordultak, amelyek növelhetik az életveszélyes ritmuszavarok kialakulásának kockázatát.

4.5 A hosszú távú fizikai terhelés hatása a bal kamrai akciós potenciál időtartamára (APD) és annak rövid távú variabilitására edzett és kontroll kutyákban

A szívizom akciós potenciálok időtartama (APD₉₀) izolált bal kamrai papilláris izomban (szubendocardialis eredet) azonos volt a két csoport között. Az enzimatikusan izolált bal kamrai myocytákban (midmyocardialis eredet) azonban a TRN kutyák hosszabb APD₉₀ értékeket és fokozott STV-APD-t mutattak a SED állatokhoz képest.

4.6 A hosszú távú fizikai terhelés hatása a különböző transzmembrán ionáramokra a kutya bal kamrai szívizomsejtekben

Az I_{to} áram nagysága szignifikánsan kisebb volt az edzett kutyákból nyert szívizomsejtekben, mint a kontroll állatokban. Az I_{NaL} , I_{NCX} , I_{CaL} , I_{K1} , I_{Kr} , and I_{Ks} áramok nagyságában azonban nem volt szignifikáns különbség.

4.7 A Kv4.3 és KChiP2 transzmembrán fehérjék relatív denzitása edzett és kontroll kutyaszívekben

Az I_{to} -áram molekuláris hátterének vizsgálatakor a TRN kutyaszívekben nem találtunk jelentős különbségeket a Kv4.3 és a KChiP2 fehérjék expressziójában a SED kutyaszívhez képest. Ez arra utal, hogy az I_{to} -áram csökkenése más járulékos fehérjékhez vagy az ioncsatorna-fehérjék poszttranszlációs módosulásához kapcsolódhat.

4.8 A HCN4 csatorna upregulációja a bal kamrában hosszan tartó fizikai terhelést követően

A TRN kutyaszívекből származó bal kamrai szívizomsejtek immuncitokémiai vizsgálata szignifikánsan magasabb HCN4 fehérje expressziót mutatott a SED kutyákhoz képest, míg a HCN1 és HCN2 fehérjék expressziójában nem volt különbség.

4.9 A fibrózis biomarkerek génexpressziója nyúl szívekben 16 hetes fizikai terhelést követően

A nyulakon végzett 16 hetes állóképességi edzést követően a COL3A1, az MMP-2 és a TIMP-1 fibrózissal összefüggő markerek relatív génexpressziója szignifikánsan megnőtt az edzett csoportban a kontroll csoporthoz képest. A COL1A1 és az FN-1 expressziója kisebb, nem-szignifikáns növekedést mutatott, a TGF- β expressziója pedig azonos volt a két csoportban.

4.10 Tesztoszteron szintek kutyákban

A DOP kutyák szérum tesztoszteron szintje magasabb volt az EX és SED kutyákhoz képest, az egyéb vizsgált laboratóriumi paraméterekben, például az elektrolitok, a vese- és májfunkció tekintetében nem volt szignifikáns különbség.

5. DISZKUSSZIÓ

A kutatásunk során a hosszú távú állóképességi edzés hatásait két olyan nem rágcsáló fajon vizsgáltuk, amelyek szív-morfológiai, elektrofiziológiai és autonóm funkciók szempontjából nagy humán relevanciával rendelkeznek. Állatkísérletes modelljeink fontos ismereteket nyújtottak a sportszív elektrofiziológiai jellemzőiről és a kamrai ritmuszavarok fokozott kockázatáról.

A disszertáció fő megállapításai:

- 1) Sikeresen kifejlesztettünk olyan edzésprotokollokat, amelyek lehetővé tették a sportszív jellemzőinek reprodukálását két különböző, humán szempontból releváns állatmodellben.
- 2) A kutatás során végzett intenzív, hosszú távú állóképességi edzés kutyákon a humán sportszív jellemzőit mutatta, ideértve a bal kamra hypertrophiáját és a megnövekedett pitvari és kamrai térfogatokat. A nyulakon és kutyákon végzett, kevésbé intenzív edzésprotokollok nem befolyásolták a kamrafal vastagságát, hangsúlyozva az edzésintenzitás kardiovaszkuláris adaptációra gyakorolt hatását.
- 3) A hosszú távú állóképességi edzés növelte a szívfrekvencia-variabilitást, ami fokozott paraszimpatikus tónusra utal. Emellett csökkentette a nyugalmi szívfrekvenciát mind az *in vivo*, mind az *in vitro* kísérletekben. Következésképpen, a vagus tónuson kívül egyéb tényezők is hozzájárulhatnak az edzés okozta bradycardia kialakulásához. Ezt a megfigyelést tovább erősítették a kutyákon paraszimpatolitikus szerrel végzett kísérleteink.
- 4) A hosszú távú állóképességi edzés következetesen nyújtotta a szívizom repolarizációját, ami *in vivo* EKG QT_c- és *in vitro* APD-megnyúlást eredményezett, egyidejűleg a sejtes mérésekben csökkent I_{to}-áram denzitással. Ezek az eredmények a szívizom repolarizáció fokozott variabilitásával társultak, ami az intenzív edzés következtében kialakult gyengült repolarizációs rezervet jelezheti.
- 5) A Kv4.3 alfa és a KChIP2 béta csatornaproteinek expressziójában nem találtunk jelentős különbségeket a SED és a TRN kutyaszívek között, ami arra utal, hogy egyéb tényezők felelősek a csökkent I_{to}-áram denzitásért.
- 6) Mindkét kísérletsorozat edzett kutyái érzékenyebbek voltak a III. osztályú antiarrhythmias szer, a dofetilid által kiváltott QT_c szakasz megnyúlásra, az arrhythmia számának és

komplexitásának növekedése mellett. Azonban az edzés és a dofetilid kombinált hatása additív volt, nem szuperadditív.

- 7) A hosszú távú állóképességi edzés növelte a kamrafibrilláció kialakulásának kockázatát az elektromos ingerlés során. Ez arra utal, hogy az edzett kutyák szívében fokozottabb volt az arrhythmia hajlam.
- 8) A hosszú távú állóképességi edzés fokozta a HCN4 csatornák expresszióját a kutya kamrai szívműködésében, ami hozzájárulhat a fokozott arrhythmia hajlamhoz azáltal, hogy növeli a kamrai ektopikus elektromos aktivitást.
- 9) A hosszú távú állóképességi edzés fokozta a fibrózis mértékét kutya bal kamrai szívműködésében, valamint fokozta a fibrózis gének expresszióját nyúl szívben, ami arrhythmia szubsztrátként hozzájárulhat az arrhythmia érzékenységhez.
- 10) A tesztoszteron fix dózisban történő alkalmazása egy standardizált állóképességi edzésprogrammal kombinálva nem fokozta a hypertrophia mértékét, és nem mutatott jelentős hatást más strukturális vagy *in vivo* repolarizációs paraméterekre kutyákban.

5.1 A sportszív állatkísérletes modelljei: tapasztalatok nyulakkal és kutyákkal

A tanulmány célja az élsportban végzett fokozott intenzitású edzés esetleges szívhatásainak vizsgálata volt. Mivel ezeket a hatásokat embereken csak korlátozottan lehet kutatni, a vizsgálat során nagy humán relevanciával bíró nyúl és kutya állatmodelleket alkalmaztunk. Míg a nyúlmodell költség-, idő- és erőforrás-hatékonyság szempontjából előnyös a nagyobb állatmodellel szemben, a kutyamodell mutatja a leginkább humán vonatkozású adatokat.

5.2 Szívmorfológiai változások hosszan tartó terhelés hatására

A vizsgálat célja a tartós edzés hatására bekövetkező szívmorfológiai változások vizsgálata volt állatkísérletes modelljeinkben. A fizikai terhelésre adott adaptációs válasz szorosan összefügg a sporttevékenység jellegével és gyakoriságával. Ezért alapvető fontosságú volt meghatározni, hogy az általunk alkalmazott edzésprotokoll hogyan befolyásolja a szív morfológiáját. Az állóképességi edzésben részesült nyulak és kutyák esetében a bal kamra végdiasztolés és az aortagyök átmérőjének növekedését tapasztaltuk, ami a szív térfogatterhelésére utal. Ez a megfigyelés összeegyeztethető a professzionális férfi állóképességi sportolóknál végzett vizsgálatok eredményeivel, ahol szintén nagyobb aorta- és bal kamrai dimenziókat találtak. Ugyanakkor az interventrikuláris septum és a hátsó fal vastagsága nem mutatott jelentős változást, és a bal kamra kontraktilitása is változatlan maradt. Az intenzíven edzett kutyamodellben megfigyeltük a bal kamra átmérőjének és a kamrafal

vastagságának növekedését az edzett csoportban. A humán adatokhoz hasonlóan azonban az ejekciós frakció nem változott. Eredményeink konzisztensek az állóképességi sportolóknál megfigyelt, edzés által kiváltott szívizom remodellinggel. Fontos megjegyezni, hogy a bal pitvari térfogat és a bal pitvari térfogat index is nőtt az edzett kutyáknál, ami hasonló a humán sportolóknál tapasztalt változásokhoz. Ezek a pitvarszintű változások potenciálisan hozzájárulhatnak olyan ritmuszavarokhoz, mint a pitvarfibrilláció, ami viszonylag gyakori a sportolók körében. A falvastagság változásában megfigyelt különbségeket befolyásolhatja az elvégzett fizikai aktivitás jellege és időtartama.

5.3 A bradycardia komplex mechanizmusa

Ez a tanulmány rámutat a bradycardia kialakulásának komplexitására, amely magában foglalja mind a fokozott vagus tónust, mind a sinoatrialis csomóban bekövetkező intrinsic változásokat. Általánosan elfogadott, hogy a bradycardia jellemzően a fokozott vagus tónus miatt alakul ki, mind a sportolók körében, mind az állatkísérletes terheléses vizsgálatok során. Azonban legújabb kutatások felhívták a figyelmet a sinoatrialis csomó (SAN) elektromos változásaira, amelyek feltehetően a hyperpolarizáció által aktivált "funny" áram (I_f) denzitásának csökkenése és a mögöttes HCN4 ioncsatorna átépülése miatt jönnek létre. Vizsgálatunkban a vegetatív idegrendszer hatásának megszüntetése után is perzisztáló sinus bradycardiát figyeltünk meg az edzett kutyaszívekből származó izolált jobb pitvari preparátumokban. Emellett az edzett kutyákban a paraszimpatolitikus szer, atropin beadása után megfigyelt mérsékelt szívfrekvencia-emelkedés is azt jelzi, hogy a hosszú távú állóképességi edzés a fokozott vagus tónus mellett a sinoatrialis csomó intrinsic adaptációjához is vezethet. Ugyanakkor a ciklushossz ütésről ütésre történő variabilitásának fokozódása és az elsőfokú atrioventrikuláris blokkok arra utalnak, hogy fokozott a paraszimpatikus aktivitás, ami szintén gyakori a magas aerob kapacitással rendelkező élsportolók körében. Összefoglalva, az eredmények azt mutatják, hogy a szív autonóm szabályozásában bekövetkező változások és az intrinsic SAN-változások együttesen felelősek az intenzív testmozgással összefüggő bradycardiáért. Azonban a kiváltó mechanizmusok pontos háttere további kutatásokat tesz szükségessé.

5.4 Arrhythmia mechanizmusok a sportszív modellben

Az edzés által kiváltott bradycardia az akciós potenciál időtartamának megnyúlását és a szív repolarizációjának fokozott diszperzióját eredményezi, ami arrhythmia kialakulásának kockázatával járhat, különösen, ha hypokalaemiával is kombinálódik. Ez a folyamat hozzájárulhat az arrhythmia szubsztrát faktor növekedéséhez a klasszikus "arrhythmia

háromszög" koncepcióban, ami azt jelzi, hogy az arrhythmia a szubsztrátok, a triggerok és arrhythmia elősegítő modulátorok specifikus kombinációinak együttes előfordulása esetén jönnek létre. Továbbá a hosszabb diasztolés intervallumokat eredményező bradycardia növelheti a tüzelési küszöböt elérő spontán diasztolés depolarizáció valószínűségét, ami potenciális arrhythmia trigger lehet. A vagus aktivitás változásai ugyancsak előidézhettek súlyos, életveszélyes szívritmuszavarokat. Kutyák mid-myocardialis szívizomsejtjeiben az I_{to} -áram csökkenését figyeltük meg, ami potenciálisan hozzájárulhat a repolarizáció sérüléséhez és ezáltal arrhythmogén szubsztrátok kialakulásához. Az elektromos ingerlés által kiváltható kamrafibrilláció előfordulása is magasabb volt az edzett állatokban. Ez összefüggésben állhat a HCN4 protein kamrában megfigyelt fokozottabb expressziójával, ami a nagyobb ektopikus aktivitással és ennek eredményeként a magasabb arrhythmia kockázattal társulhat. Az edzett nyulak és kutyák bal kamrájában megfigyelt fokozott fibrózis is növelheti az arrhythmia kockázatát.

5.5 A fizikai terhelés hatása a kamrai repolarizációra kutya és nyúl sportszív modellekben

Mindkét állatmodellben megfigyeltük a szívizom repolarizációjának károsodását a krónikus edzés következtében, amelyet *in vivo* a megnyúlt QT_c-intervallum, a kutya myocytákban a megnyúlt APD, valamint a repolarizációs variabilitási paraméterek megnövekedett értékei jellemezték *in vivo* és *in vitro* körülmények között. A legjelentősebb változásokat az intenzíven edzett kutyáknál tapasztaltuk. A változások a repolarizáció fokozott térbeli és időbeli diszperziójára utalnak, ami hozzájárulhat az arrhythmia kialakulásához. Az intenzív edzést követően az I_{Kr} -csatorna gátló dofetilid adásával a repolarizációs károsodás még kifejezettebb volt. Ennek hátterében állhat a kutya midmyocardialis myocytákban tapasztalt I_{to} áram csökkenése is. Ezek az eredmények összhangban állnak a korábbi kutatásokkal, amelyek összekapcsolták a csökkent I_{to} áramot a szívizom akciós potenciál időtartamának meghosszabbodásával szívelégtelenségben. A repolarizációban részt vevő egyéb kulcsfontosságú ionáramok nem különböztek szignifikánsan a csoportok között a kutya-modellben. Az edzett kutyákban megfigyelt alacsonyabb I_{to} -áram denzitás nem volt köthető a Kv4.3 vagy a KCHIP2 fehérjék csökkent expressziójához, ami arra utal, hogy a jelen kutatásban nem vizsgált egyéb komplementer fehérjék és intracelluláris jelátviteli útvonalak is befolyásolhatják az I_{to} áramot. Fontos megjegyezni, hogy az edzés által kiváltott repolarizációs változások, bár mérsékeltek, más tényezőkkel összeadódhatnak, és potenciálisan szubsztrátot biztosíthatnak az arrhythmia kialakulásához.

5.6 Szteroid abúzus kardiovaszkuláris kockázatai állóképességi sportolóknál

Az anabolikus-androgén szteroidok (AAS) visszaélészerű használata jelentős kardiovaszkuláris kockázatot hordoz magában, beleértve a magas vérnyomást, a kóros lipidprofil változásokat, a trombotikus események fokozott kockázatát, a szív hypertrophiáját és a szívizom repolarizációjának károsodását. Ezek a tényezők együttesen hozzájárulhatnak ritmuszavarokhoz, szívelégtelenség kialakulásának fokozott kockázatához, sőt akár hirtelen szívhalálhoz is. Kutatásunkban azoknál az állatoknál, akik állóképességi edzésprogram mellett tesztoszteron kezelést is kaptak, viszonylag enyhe változásokat találtunk a hangulatban, a libidóban és a vázizom tömegben, és nem találtunk jelentős változásokat a mért szívparaméterekben. Ennek részben oka lehet a vizsgálatban alkalmazott viszonylag alacsony tesztoszteron dózis, a valós életben a sportolók ennél jóval nagyobb AAS-dózisokat is használhatnak. Fontos megjegyezni, hogy az AAS más gyógyszerekkel való kombinációja és a különböző sportágak közötti eltérések is befolyásolhatják az eredményeket.

7. KÖVETKEZTETÉS

A humán sportszívet modellező állatkísérletekben megállapítottuk, hogy a futóedzések során végzett intenzív állóképességi terhelés növeli a szívizom repolarizációjának időtartamát, és fokozza az arrhythmia kialakulásának kockázatát. Bár a testmozgás alapvetően jótékony hatású, az erőteljes edzés további kockázatokat hordozhat, különösen azok számára, akik – akár még fel nem ismert – alapbetegséggel élnek. Kutatásunk rávilágít arra, hogy a sportolóknál kialakuló ritmuszavarok komplex mechanizmusok eredményei, és hasznos ismeretekkel járul hozzá az edzésprogramok és gyógyszeres kezelések kiválasztásához ebben a populációban. Az állatkísérletes eredmények további kutatásokra ösztönöznek annak érdekében, hogy ezeket a megállapításokat egyértelműen alkalmazhassuk humán sportolóknál is.

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A tudományos munka a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetben készült. Tisztelettel köszönöm **Dr. Baczkó István** professzor úrnak, a tanszék jelenlegi vezetőjének, és **Dr. Varró András** professzor úrnak, korábbi tanszékvezetőnek, hogy lehetőséget biztosítottak számomra tudományos kutatómunkám és doktori tanulmányaim végzésére az intézetben. Köszönöm **Dr. Dux László** professzor úrnak, a Multidiszciplináris Orvostudományi Doktori Iskola vezetőjének, hogy lehetővé tette számomra a doktori tanulmányok folytatását az egyetemen. Köszönöm továbbá **Dr. Forster Tamás** professzor úrnak, a Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ korábbi vezetőjének a támogatását doktori tanulmányaim során.

Őszinte hálámat szeretném kifejezni **Dr. Varró András** professzor úrnak az értékes iránymutatásért és mentorálásért, amely végigkísérte doktori tanulmányaimat, és amely meghatározó szerepet játszott tudományos munkám minőségének kialakításában.

Szeretnék külön köszönetet mondani **Dr. Farkas Attilának**, mindenkori témavezetőmnek, aki diákkörös hallgató korom óta folyamatos meghatározó szerepet töltött be tudományos munkám során. Köszönöm folyamatos szakmai és emberi támogatását, kedvességét, illetve, hogy bevezetett a szívelektrofiziológia és a tudományos kutatómunka világába, szakmai hozzáállásával ösztönzött a kritikus gondolkodásmód elsajátítására.

Köszönettel tartozom **Dr. Farkas Andrásnak** az inspiráló beszélgetésekért és a sok kiváló tanácsért, amelyek nélkülözhetetlen segítséget nyújtottak a doktori tanulmányaim során. Tanítása és bátorítása szintén nélkülözhetetlen volt számomra tudományos karrierem első lépéseiben.

Köszönöm **Dr. Papp Gyula** professzor úrnak, **Dr. Jost Norbert** professzor úrnak, és **Dr. Virág Lászlónak** a szakmai segítséget, a kritikus gondolkodásmód elsajátításához nyújtott segítséget, javaslatokat és támogatást az évek alatt.

Hálás vagyok legközelebbi kollégáimnak és egyben barátaimnak, **Dr. Zombori-Tóth Noéminek**, **Dr. Topal Leilának**, **Dr. Tóth Noéminek**, **Dr. Pintér Jenőnek**, **Dr. Husti Zoltánnak**, **Dr. Hornyik Tibornak**, **Dr. Ágoston Gergelynek**, **Dr. Nagy Norbertnek**, **Dr. Nagy Zsófiának**, **Dr. Morvay Nikolettnek**, **Dr. Déri Szilviának**, **Dr. Demeter-Haludka Viviennek**, **Dr. Kui Péternek**, **Dr. Gazdag Péternek**, **Dr. Ördög Balásznak** és **Dr. Prorok Jánosnak**. Az évek során nyújtott támogatásuk, segítségük nélkül a fent bemutatott tudományos munka szegényebb lenne.

Köszönöm a közös munkát a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet minden munkatársának. Külön köszönettel tartozom **Kosztka Máriának, Molnár Melindának, Deákné Tóth Anikónak, Girst Gábornak, Dobai Gábornak és Motzwickler Róbertnek** a kiváló adminisztratív és technikai segítségükért. Mindenekelőtt szeretném megköszönni családomnak és barátaimnak a folyamatos támogatást és megértést, amely végigkísért a munkám során

9. TÁMOGATÁSOK

A “Cardiac electrophysiological remodelling associated with enhanced arrhythmia susceptibility in a canine model of elite exercise” című közleményhez szükséges munkát a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH K 135464 (A.V.), NKFIH PD-125402 és FK-129117 (N.N.), NKFIH K 128851 (I.B.), SNN-134497 (V.V.), és GINOP-2.3.2.-15-2016-00047 és TKP2021-EGA-32), az Emberi Erőforrások Minisztériuma (20391 3/2018/FEKUSTRAT és EFOP-3.6.2-16-2017-00006), az UNKP-20-5-SZTE-165, a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja (N.N.), az Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, valamint a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem intézményi ösztöndíja (SZTE ÁOK KKA 2021 (L.V.)) támogatta. A “Long-term endurance training-induced cardiac adaptation in new rabbit and dog animal models of the human athlete’s heart” című közleményhez szükséges munkát az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKA K 119992), az UNKP-17- 4 és UNKP-18-4-SZTE95, az Innovációs és Technológiai Minisztérium Új Nemzeti Kiválósági Programja, a Gazdaságfejlesztési és Innovációs Operatív Program (GINOP-2.3.2-15-2016-00047), az Emberi Erőforrások Minisztériuma (EFOP-3.6.2- 16-2017-00006), a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja (N.N), és a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH PD-125402 (N. N.) és FK-129117 (N.N.)) támogatta. A “Long-term endurance exercise training alters repolarization in a new rabbit athlete’s heart model” című közleményhez szükséges munkát a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH K-135464, NKFIH K-128851, FK-129117, és GINOP-2.3.2-15-2016-00047), az Emberi Erőforrások Minisztériuma (20391-3/2018/FEKUSTRAT és EFOP3.6.2-16-2017-00006), valamint az Eötvös Loránd Kutatási Hálózat támogatta.