

**LEHETSÉGES ARITMIAMECHANIZMUSOK:
A GYENGÍTETT REPOLARIZÁCIÓS REZERV
JELENTŐSÉGE**

Ph.D. tézis

Dr. Topal Leila

Szeged

2023

LEHETSÉGES ARITMIAMECHANIZMUSOK: A GYENGÍTETT REPOLARIZÁCIÓS REZERV JELENTŐSÉGE

Ph.D. tézis

Témavezetők:

**Professzor Dr. Varró András, MD, Ph.D., DSc
Professzor Dr. Norbert Jost, Ph.D., DSc**

**Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet,
Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar,
Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola,
Szegedi Tudományegyetem**



Szeged, Magyarország

2023

PUBLIKÁLT KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

A Ph.D. disszertáció alapjául szolgáló közlemények:

- I. **Leila Topal**^{*}, Alexandra Polyák^{*}, Noémi Tóth, Gergely Ágoston, Péter Bencsik, Zsófia Kohajda, János Prorok, Szilvia Déri, Norbert Nagy, Norbert Jost, László Virág, Attila S. Farkas, András Varró, István Baczkó (2022). Endurance training-induced cardiac remodeling in a guinea pig athlete's heart model.
CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY, 100 (10) pp 993- 1004.
[doi: 10.1139/cjpp-2022-0073](https://doi.org/10.1139/cjpp-2022-0073).
IF: 2.245, Q2
- II. Péter Orvos^{*}, Bence Pászti^{*}, **Leila Topal**, Péter Gazdag, János Prorok, Alexandra Polyák, Tivadar Kiss, Edit Tóth-Molnár, Boglárka Csupor-Löffler, Ákos Bajtel, András Varró, Judit Hohmann, László Virág, Dezső Csupor (2020). The electrophysiological effect of cannabidiol on hERG current and in guinea-pig and rabbit cardiac preparations
SCIENTIFIC REPORTS, 10 1 Paper 16079. 9 p. [doi: 10.1038/s41598-020-73165-2](https://doi.org/10.1038/s41598-020-73165-2).
IF: 4.38, D1
- III. **Leila Topal**^{*}, Muhammad Naveed^{*}, Péter Orvos, Bence Pászti, János Prorok, Ákos Bajtel, Tivadar Kiss, Boglárka Csupor-Löffler, Dezső Csupor, István Baczkó, András Varró, László Virág László, Norbert Jost (2021). The electrophysiological effects of cannabidiol on action potentials and transmembrane potassium currents in rabbit and dog cardiac ventricular preparations
ARCHIVES OF TOXICOLOGY, 95 7 pp 2497-2505. [doi: 10.1007/s00204-021-03086-0](https://doi.org/10.1007/s00204-021-03086-0).
IF: 6.168, D1
- IV. Bence J. Pászti^{*}, János Prorok^{*}, Tibor Magyar, Tamás Árpádfy-Lovas, Balázs Györe Balázs, **Leila Topál**, Péter Gazdag, Jozefina Szlovák, Muhammad Naveed, Norbert Jost, Norbert Nagy, András Varró, László Virág, István Koncz. (2021). Cardiac electrophysiological effects of ibuprofen in dog and rabbit ventricular preparations: Possible implication to enhanced proarrhythmic risk
CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY, 99 1 pp 102-109.
[doi: 10.1139/cjpp-2020-0386](https://doi.org/10.1139/cjpp-2020-0386)
IF: 2.245, Q2

^{*}Megosztott elsőszereplőség

A Ph.D. disszertáció alapjául szolgáló közlemények impakt faktora: 15.038

A Ph.D. ösztöndíj ideje alatt publikált további közlemények

- I. Alexandra Polyák*, ***Leila Topal****, Noémi Zombori-Tóth, János Prorok, Zsófia Kohajda, Szilvia Déri, Vivien Demeter-Haludka, Péter Hegyi, Viktória Venglovecz, Gergely Ágoston, Zoltán Husti, Péter Gazdag, Jozefina Szlovák, Tamás Árpádfy-Lovas, Muhammad Naveed, Annamária Sarusi, Norbert Jost, László Virág, Norbert Nagy, István Baczkó, Attila S. Farkas, András Varró (2023). Cardiac electrophysiological remodeling associated with enhanced arrhythmia susceptibility in a canine model of elite exercise
eLIFE, 12 Paper e80710. 27 p. [doi: 10.7554/eLife.80710](https://doi.org/10.7554/eLife.80710).
IF: 8.713, D1
- II. Zsófia Kohajda*, László Virág*, Tibor Hornyik, Zoltán Husti, Anita Sztojkov-Ivanov, Norbert Nagy, András Horváth, Richárd Varga, János Prorok, Jozefina Szlovák, Noémi Tóth, Péter Gazdag, ***Leila Topal***, Muhammad Naveed, Tamás Árpádfy-Lovas, Bence J. Pászti, Tibor Magyar, István Koncz, Szilvia Déri, Vivien Demeter-Haludka, Zoltán Aigner, Balázs Ördög, Márta Patfalusi, László Tálosi, László Tiszlavicz, Imre Földesi, Norbert Jost, István Baczkó, András Varró (2022). In vivo and cellular antiarrhythmic and cardiac electrophysiological effects of desethylamiodarone in dog cardiac preparations
BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY, 179 13 pp 3382-3402.
[doi: 10.1111/bph.15812](https://doi.org/10.1111/bph.15812)
IF: 9.473, D1
- III. Dénes Kiss*, Balázs Horvát*, Tamás Hézső, Csaba Dienes, Zsigmond Kovács, ***Leila Topal***, Norbert Szentandrassy, János Almássy, János Prorok, László Virág, Tamás Bányász, András Varró, Péter Nánási, János Magyar (2021). Late Na⁺ Current Is [Ca²⁺]_i-Dependent in Canine Ventricular Myocytes
PHARMACEUTICALS, 14 11 Paper 1142. 16 p. [doi: 10.3390/ph14111142](https://doi.org/10.3390/ph14111142).
IF: 6.36, Q1
- IV. Tamás Hézső*, Muhammad Naveed, Dienes Csaba, Dénes Kiss, János Prorok, Tamás Árpádfy-Lovas, Richárd Varga, Erika Fujii, Tanju Mercan, ***Leila Topal***, Kornél Kistamás, Norbert Szentandrassy, János Almássy, Norbert Jost, János Magyar, Tamás Bányász, István Baczkó, András Varró, Péter Nánási, László Virág, Balázs Horváth, (2021). Mexiletine-like cellular electrophysiological effects of GS967 in canine ventricular myocardium
SCIENTIFIC REPORTS, 11 1 Paper 9565. 11 p. [doi: 10.1038/s41598-021-88903-3](https://doi.org/10.1038/s41598-021-88903-3).
IF: 4.996, D1
- V. Khadija Belasri, ***Leila Topal***, Matthias Heydenreich, Andres Koch, Erich Kleinpeter, Ferenc Fülöp, István Szatmári (2020). Synthesis and Conformational Analysis of Naphthoxazine-Fused Phenanthrene Derivatives
MOLECULES, 25 11 Paper 2524. 15 p. [doi: 10.3390/molecules25112524](https://doi.org/10.3390/molecules25112524).
IF: 4.411, Q1

*Megosztott elsőszerzős közlemény

Publikált közlemények összesített impakt faktora: 48.991

1. BEVEZETÉS

1.1 A szívizomzat strukturális és elektromos remodelációja a hosszú távú intenzív sportolás következtében

A rendszeres testmozgás és a versenysport számos jótékony hatásai ellenére az elmúlt évtizedekben számos tanulmány beszámolt arról, hogy a hosszú távon folytatott túlzott mértékű, magas intenzitású testedzés növelheti a szívritmuszavarok, beleértve a pitvarfibrillációt, a kamrai aritmiákat, sőt a hirtelen szívhalál kialakulásának kockázatát is. A hosszú távú intenzív edzés vagy a túlterhelés a szív olyan kóros strukturális (pl. fokozott szívizomfibrózis) és elektrofiziológiai elváltozásaihoz (pl. extrém bradycardia, QRS-intervallum kiszélesedés és QT-intervallum megnyúlás) vezethet, amely elősegítheti a különböző aritmiák kialakulását, különösen a már meglévő szívbetegségek vagy gyengített repolarizációs tartalék (rezerv) jelenlétében. Feltehetően a szívizomzat megváltozott struktúrája és a csökkent repolarizációs rezerv együttes jelenléte fokozhatja a sportolók aritmiahajlamát. Fontos kiemelni, hogy a megnyúlt repolarizáció okozta repolarizációs inhomogenitás önmagában nem elegendő a szívritmuszavarok kiváltásához, de potenciális aritmia szubsztrátot hozhat létre. Ebben az esetben egy "aritmia trigger", mint például egy extraszisztolé egy érzékeny pillanatban áthaladhat a fokozott repolarizációs inhomogenitású kamrai izomzaton, ezzel segítve a re-entry aritmiák létrejöttét.

1.1 A repolarizációs tartalék jelentősége, illetve a gyengült repolarizációs rezerv és a fokozott repolarizációs diszperzió aritmogén következményei

A repolarizációs rezerv fogalma eredetileg Rodentól származik, amit később experimentálisan is bizonyítottak. Ezek az ismeretek világítottak rá arra, hogy a repolarizáció egy olyan túlbiztosított élettani folyamat, amely megvédi a szívet a potenciálisan aritmia szubsztrátumként jelentkező extrém módon megnyúlt akciós potenciálidőtartam (API) és az ennek következtében megnyúlt QT-intervallum ellen. Vagyis egyetlen repolarizációs komponens hiánya nem vezet az API, illetve a QT-intervallum túlzott mértékű megnyúlásához. A különböző káliumcsatornák képesek helyettesíteni és/vagy kiegészíteni a hiányzó láncszem funkcióját, ezért a repolarizáció látszólag érintetlen marad. Következésképpen a jól működő szívet a különböző repolarizáló ionáramok finom szabályozottsága megvédi a malignus szívritmuszavarok kialakulása ellen. A repolarizációs kapacitásnak fontos szerepe van a transzmurális API-diszperzió csökkentésében és így az életveszélyes aritmiák megelőzésében. A repolarizációs rezerv több okból is gyengülhet, például gyógyszeres expozíció (beleértve a kardiális és a tipikusan nem kardiális gyógyszereket is), különböző, a szív átépülését (remodelling) kiváltó állapotok (pl. szívelégtelenség, hosszú távú erőteljes edzés, diabetes mellitus), extrém bradycardia vagy genetikai rendellenességek (hosszú QT-szindrómák) miatt.

Ilyen esetekben még a mérsékelt káliumáram-gátlás is a kamrai API proaritmiás meghosszabbodásához vezethet. Ebből kifolyólag több káliumcsatorna együttes gátlása vagy a csatornák elégtelensége fokozott proaritmiás kockázattal jár, hiszen a repolarizációs rezerv jelentős mértékű gyengítése a repolarizációs fázis túlzott mértékű megnyúlását eredményezi, mindemellett a repolarizáció térbeli heterogenitás is fokozódik. Így egy érzékeny periódusban érkező aritmia trigger (pl. extraszisztolé) a megnövekedett repolarizációs inhomogenitású kamrán re-entry pályát alakít ki.

1.2 Veszélytelennek tűnő gyógyszerek jelentősége az atléták körében

A sportolók mindig újabb és újabb lehetőségeket keresnek, hogy fokozhassák teljesítményüket. A piacon számos olyan termék megtalálható, amely haszonnal kecsegtet a vágyott cél eléréséhez. Ilyenek például a különböző étrend-kiegészítők (pl. kannabidiol; CBD), sőt egyes gyógyszerek (pl. nem-szteroid gyulladáscsökkentők; NSAID-ok) is. Meglepő módon az ezekben a termékekben található vegyületek kardiovaszkuláris biztonsági profilját ritkán vizsgálták meg kellő körtekintéssel (például a QT-intervallum időtartamára és/vagy a különböző transzmembrán ionáramokra gyakorolt hatása). Ezeknek a vegyületek hatása és a krónikus, nagy intenzitású terhelés által kiváltott szív strukturális-elektrofiziológiai átépülése közötti kölcsönhatás gyengítheti a repolarizációs rezervet, amely a sportolókban potenciális aritmia szubsztrátot hozhat létre. Éppen ezért, a veszélytelennek tűnő vegyületek repolarizációra gyakorolt hatásának pontos ismerete elengedhetetlen, még abban az esetben is, amikor ezek a hatások marginálisak.

2 CÉLKITŰZÉSEK

Mivel a repolarizációt több tényező is befolyásolhatja, úgymint a szívizomzat hosszú távú állóképességi edzéssel összefüggésbe hozható strukturális és funkcionális remodellációja, valamint a repolarizációs tartalék gyógyszer-indukált változása, jelen kutatómunkánk céljai a következők voltak:

1. Olyan kisállatmodell kifejlesztése, amely az emberi sportolói szív szempontjából releváns.
2. A hosszú távú állóképességi edzés következményeként a szívizomzat strukturális-elektromos működésében bekövetkező változások mögöttes mechanizmusainak feltérképezése.
3. A kannabidiol és az ibuprofén szívelektrofiziológiai hatásainak celluláris vizsgálata elektrofiziológiai szempontból jelentős humán relevanciával rendelkező nagyobb állatokból nyert natív bal kamrai szívizomsejtekben (nyúl és kutya). Ezen vegyületek proaritmiás mellékhatásainak feltérképezése a repolarizációs rezervben fontos szereppel bíró különböző transzmembrán ionáramokra gyakorolt hatásaik révén.

3 EREDMÉNYEK

3.1 A hosszú távú állóképességi edzés szív remodeláló hatásának vizsgálata kisállat modellben

3.1.1 A hosszútávú állóképességi edzés következtében fellépő echokardiográfiai változások

A 15 hetes edzésprogram a diasztolés paraméterek jelentős változásához vezetett az edzett (EXE) csoportban a kontrol (SED) tengerimalacokhoz képest: megnagyobbodott bal kamrai belső átmérő és megvastagodott interventriculáris szeptumfal alakult ki. Emellett az „EXE” csoportban a szisztolében mért bal kamrai hátsó fal szignifikánsan megvastagodott. Fontos kiemelni, hogy az "EXE" állatok a bal kamrai végdiasztolés átmérője is növekvő tendenciáját mutatott. Az ejekciós frakció és a frakcionált rövidülés nem különbözött szignifikánsan a csoportok között.

3.1.2 A hosszú távú állóképességi edzés következtében kialakuló szívizom fibrózis vizsgálata tengerimalac sportszív modellben

A hosszú távú állóképességi edzés eredményeként az edzett állatokban magasabb fibrózis score értékeket detektáltunk, illetve a hegesedő szövet is nagyobb arányban jelentkezett a „SED” csoporthoz képest. A szövettani vizsgálat szignifikánsan nagyobb mértékű fibrózist azonosított a jobb pitvar, a jobb kamra és a szeptum szubendokardiális régióiban az „EXE” csoportban. Ezenkívül az „EXE” állatok bal kamrai régiójában is fokozott mértékű fibrózis mutatkozott.

3.1.3 A hosszú távú állóképességi edzés szívfrekvenciára gyakorolt hatása éber állatokban és Langendorff-perfúziós tengerimalac szívben

Az éber „EXE” állatokban az állóképességi edzésprogram eredményeként bradycardia alakult ki, ami jelentősen meghosszabbodott RR-intervallumokban manifesztálódott. Az *in vivo* adatokkal ellentétben az *ex vivo* Langendorff-kísérletek során az RR-intervallumok hossza nem különbözött szignifikánsan a csoportok között. Az RR-intervallumok különböző „beat-to-beat” variabilitási paraméterei jelentősen megemelkedtek az éber "EXE" tengerimalacokban a "SED" állatokhoz képest.

3.1.4 A hosszú távú állóképességi edzés hatása az EKG paraméterekre és azok variabilitási paramétereire

Az edzésprogram végén regisztrált EKG felvételek az éber állatok esetében nem mutattak szignifikáns különbséget a PQ intervallum hosszában a vizsgált csoportok között. A QRS- intervallum azonban jelentősen kiszélesedett az „EXE” csoportban. Ezzel szemben a PQ és QRS intervallumok hossza az *ex vivo* Langendorff-kísérletekben nem különbözött szignifikánsan a csoportok között. A több hetes tréning program végén a QT-intervallum szignifikánsan megnyúlt az „EXE” csoportban, amit a szívfrekvenciával korrigált QT- intervallum (QTc) szignifikáns meghosszabbodása kísért. Mindemellett a QT-intervallum rövid távú variabilitása is emelkedett tendenciát mutatott az "EXE" csoportban. A repolarizáció egyéb „beat-to-beat” variabilitási paramétereiben is fokozott tendenciát figyeltünk meg az „EXE” állatokban (beleértve a hosszú távú variabilitást, a hosszú távú instabilitást és az instabilitást), de egyik sem tért el szignifikánsan. A változatlan RR-intervallumokhoz hasonlóan a QT-intervallumok időtartama sem különbözött a csoportok között az *ex vivo* Langendorff-kísérletekben.

Az *in vivo* EKG-vizsgálatok során egyik csoportban sem észleltünk szívritmuszavarokat. Bár az *ex vivo* Langendorff-kísérletek során esetenként mindkét csoportban jelentkeztek aritmiák, ezeknek számában és komplexitásában nem volt különbség a csoportok között.

3.1.5 A hosszútávú állóképességi edzés celluláris elektrofiziológiai hatásai

Az edzés protokoll következtében és az alkalmazott mérési körülmények között az enzimatikusan izolált bal kamrai szívizomsejtek lassú késői egyenirányító K^+ -áramának (I_{Ks}), a késői Na^+ -áramnak (I_{NaL}) és a Na^+ - Ca^{2+} kicserélő (I_{NCX}) amplitúdójának nagysága nem különbözött szignifikánsan a csoportok között. A patch clamp adatokkal összhangban az "EXE" csoport szívének bal kamrájából izolált myocitáiban 90%-os repolarizációnál mért API hosszában nem volt szignifikáns különbség „SED” csoporthoz képest. Az API rövid távú variabilitása nem különbözött szignifikánsan a csoportok között.

3.2 A kannabidiol elektrofiziológiai hatásainak vizsgálata a repolarizáló transzmembrán káliumáramokra

3.2.1 A kannabidiol hatása a gyors késői egyenirányító káliumáramra (I_{Kr}) natív nyúl bal kamrai szívizomsejteken

A CBD I_{Kr} -ra gyakorolt hatását 37 °C-on vizsgáltuk nyúlszívből enzimatikusan izolált bal kamrai szívizomsejteken. Az egészséges patch clamp-vizsgálatok során az 1 μ M CBD már 3- 5 perces akut szuperfúzió után az I_{Kr} -áram jelentős gátlását detektáltuk. A CBD magasabb koncentrációi, nevezetesen a 2,5, 5 és 10 μ M az I_{Kr} további szignifikáns gátlásához vezettek.

Eredményeink alátámasztják a CBD koncentrációfüggő I_{Kr} -áram gátló hatását. A koncentrációfüggő patch clamp vizsgálatok alapján a CBD maximális hatásának felét (EC_{50}) $4,9 \mu\text{M}$ értékre becsültük.

3.2.2 A kannabidiol hatásának vizsgálata a lassú késői egyenirányító káliumáramra (I_{Ks}) natív nyúl bal kamrai szívizomsejteken

A CBD I_{Ks} -re gyakorolt gátló hatását 37°C -on vizsgáltuk nyúlshívből enzimatikusan izolált bal kamrai szívizomsejteken. A patch clamp vizsgálataink már $1 \mu\text{M}$ CBD akut szuperfúzióját követően jelentős I_{Ks} -áram gátlást mutattak. További gátló hatást figyeltünk meg $2,5$ és $5 \mu\text{M}$ CBD akut szuperfúziója után, sőt az I_{Ks} -farkáram amplitúdója $10 \mu\text{M}$ CBD alkalmazása után látszólag teljesen lecsökkent. Eredményeink alapján a CBD koncentrációfüggő módon csökkentette az I_{Ks} -farkáram amplitúdóját. A koncentrációfüggő patch clamp vizsgálatok alapján az EC_{50} -értéket $3,1 \mu\text{M}$ -ra becsültük.

3.2.3 A kannabidiol hatásának vizsgálata a tranziens kifelé irányuló káliumáramra (I_{to}) és a befelé egyenirányító káliumáramra (I_{K1}) natív kutya és nyúl bal kamrai szívizomsejteken

A CBD I_{to} -áramra gyakorolt hatását kutyák és nyulak szívéből enzimatikusan izolált bal kamrai szívizomsejteken vizsgáltuk. Az egészséjtes patch clamp vizsgálatok alapján a CBD különböző koncentrációkban ($1, 2,5, 5, 10 \mu\text{M}$) az I_{to} -áram amplitúdóját szignifikánsan csökkentette enzimatikusan izolált kutya bal kamrai szívizomsejteken. Azonban a natív nyúl bal kamrai szívizomsejtek I_{to} -áramának amplitúdójában $10 \mu\text{M}$ CBD jelenlétében nem mutatkozott eltérés. Az EC_{50} érték meghatározásához különböző CBD-koncentrációkat alkalmaztunk, köztük $1 \mu\text{M}$, $2,5 \mu\text{M}$, $5 \mu\text{M}$ és $10 \mu\text{M}$ enzimatikusan izolált kutya bal kamrai szívizomsejteken. Az I_{to} -áram amplitúdóját $5 \mu\text{M}$ CBD jelentősen csökkentette, ami megegyezik a becsült EC_{50} értékkel. A DMSO hatásának kizárásához oldószeres kontroll kísérleteket végeztünk. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a $0,01\%$ -os DMSO nem befolyásolta I_{to} -áramot. Továbbá celluláris elektrofiziológiai vizsgálataink rávilágítottak arra, hogy a CBD nem változtatja meg az I_{K1} -áram amplitúdóját.

3.3 A kannabidiol inward áramokra gyakorolt celluláris elektrofiziológiai hatásainak vizsgálata nyúlshívből enzimatikusan izolált bal kamrai szívizomsejteken: az L-típusú kalcium áram (I_{CaL}) és késői nátrium áram (I_{NaL})

A CBD I_{CaL} -áramra gyakorolt hatását nyúlshívből enzimátikus úton izolált bal kamrai szívizomsejteken vizsgáltuk. $10 \mu\text{M}$ CBD frekvencia-függő módon szignifikánsan csökkentette az I_{CaL} -áram amplitúdóját. A CBD hatását az I_{NaL} -áramra szintén nyúl szívéből származó bal

kamrai szívizomsejteken vizsgáltuk. 10 μM CBD akut szuperfúziója az I_{NaL} -áram jelentős csökkenéséhez vezetett.

3.4 Az ibuprofén transzmembrán ionáramokra gyakorolt elektrofiziológiai hatásának vizsgálata

3.4.1 Az ibuprofén hatásának vizsgálata a tranziens kifelé irányuló káliumáramra (I_{to}) és a befelé egyenirányító káliumáramra (I_{K1}) natív kutya bal kamrai szívizomsejteken

Az I_{to} -áram amplitúdója csekély mértékben, azonban szignifikánsan csökkent 250 μM ibuprofén akut szuperfúzióját követően. A DMSO befolyásoló hatásának kizárása érdekében oldószeres kísérletet végeztük, amelyek révén bebizonyosodott, hogy 0.01 % DMSO nem befolyásolta az I_{to} -áramot. Az eredeti regisztrátumok feszültség-áram görbéinek „stedy-state” I_{K1} -áram amplitúdóját nem befolyásolta az alkalmazott ibuprofén koncentráció.

3.4.2 Az ibuprofén L-típusú kalcium áramra (I_{CaL}) és késői nátrium áramra (I_{NaL}) gyakorolt hatásának vizsgálata kutya szívből enzimatikusan izolált bal kamrai szívizomsejteken

250 μM ibuprofén alkalmazását követően az I_{CaL} -áram amplitúdója enyhén szignifikánsan csökkent. Az áram amplitúdója körülbelül 10 perces mosási periódust követően visszatért az eredeti, kiindulási szintre. A DMSO befolyásoló hatásának kizárása érdekében oldószeres kísérletet végeztük. Eredményeink alapján megállítható, hogy az oldószer alkalmazott koncentrációja nem befolyásolta az áram nagyságát. Mindemellett, az I_{NaL} -áram nagysága is csekély mértékben, de szignifikánsan csökkent 250 μM ibuprofén hatására. Az alkalmazott DMSO-oldószer nem befolyásolta az I_{NaL} -áram amplitúdóját.

4 DISZKUSSZIÓ

Kutatásom céljai közé tartozott a tartós állóképességi edzés következtében kialakuló szív remodelláció során fellépő repolarizációs tartalék lehetséges változásainak vizsgálata, valamint a kannabidiol (CBD) és az ibuprofén celluláris szívelektrofiziológiai hatásainak azonosítása, mivel az előidézett változások összessége magukban hordozhatják a szívritmuszavarok kialakulásnak magasabb kockázatát.

4.1 A megfelelő, jelentős humán relevanciával rendelkező állatmodellek kiválasztásának szempontjai

A szívritmuszavarok máig világszerte jelentős egészségügyi terhet jelentenek, ezért a mögöttes mechanizmusok kutatása továbbra is kiemelt szereppel bír az új megelőző és terápiás stratégiák kidolgozásához, kifejlesztéséhez. Az állatmodell megválasztása elsősorban a felvetett kutatási kérdéstől és az aritmia jellegétől függ. A kis rágcsálók előnyeik miatt széles körben alkalmazott

laboratóriumi állatok, azonban elektrofiziológiai tekintetben jelentősen eltérnek a humán szívtől. A nagyobb laboratóriumi állatok és az emberek szívfrekvenciája lényegesen alacsonyabb, mint a kis rágcsálóké (pl. egér és a patkány). Más állatok, például kutyák, nyulak és tengerimalacok elektrofiziológiai szempontból jobban hasonlítanak az emberhez. Irodalmi adatok egyértelműen bizonyítják, hogy a kutyaszív bal kamrai régiója az emberi szívhez hasonló celluláris elektrofiziológiai sajátságokkal rendelkezik. Érdeemes kiemelni, hogy a tengerimalac és a nyúl állatmodellek a patkányokhoz és az egerekhez hasonló gazdasági előnyökkel rendelkeznek, így magas elemszámú vizsgálatok végezhetőek. Azonban ezek a modellek további előnyöket hordoznak magukban: az alacsonyabb szívfrekvencia mellett a QT-intervallum és az akciós potenciál jellemzői hasonlóságot mutatnak a nagyobb laboratóriumi állatokéihoz, például a kutyákéhoz. Ezért a kutya modellhez hasonlóan a nyulakat és a tengerimalacokat gyakran alkalmazzák „gyógyszer-indukált hosszú QT” modellként a biztonság farmakológiai és toxikológiai kutatások során. Fontos azonban megjegyezni, hogy a tengerimalac- és nyúl szívek natív bal kamrai szívműködésében az I_{to} -csatorna karakterisztikája eltér a kutyák és az emberek szívétől.

4.2 Az állóképességi edzés szív remodelláló hatásának vizsgálata kisállat sportszív modellben

4.2.1 A hosszú távú állóképességi edzés által előidézett strukturális változások

Az edzés következményeként kialakuló egyik legfontosabb strukturális változás a bal kamrai szívműködés tágulása és megnagyobbodása volt, amely összhangban van a nagyobb állatmodellekben kapott eredményekkel. Az élsportolókhoz hasonlóan az ejekciós frakció és a frakcionált rövidülés változatlan maradt az edzett csoportban. Strukturális és hemodinamikai echokardiográfiai eredményeink megfelelnek az állóképességi sportolók körében a nagy dinamikai igénybevételű edzés által kiváltott szívadaptációknak. Korábbi tanulmányok arról számoltak be, hogy az állóképességi edzéssel kapcsolatos rendszeres izotóniás gyakorlatok (pl. úszás, hosszútávfutás) általában szívmegnagyobbodáshoz (a bal kamra üregméretének növekedéséhez) vezetnek, azonban nyilvánvaló szívhipertrófia (a bal kamra falvastagságának növekedése) nem minden esetben alakul ki. Bár néhány mérésünk nem volt statisztikailag szignifikáns, a megfigyelt általános tendenciák értékes bizonyítékként szolgálhatnak a sportszív strukturális adaptációinak megértéséhez, illetve segíthetik a további vizsgálatokat.

A magas intenzitású állóképességi sportokatt űzők körében rendkívül fontos megfigyelés a szívműködés fibrotikus elváltozása. Az edzett állatok szívéből nyert szövettani eredményeink megegyeznek a humán adatokkal: nagyobb mértékű fibrózis jelenlétét detektáltuk az edzett állatok szívének különböző régióiban. A fibrotikus elváltozás szintje szignifikánsan megemelkedett az edzett állatok szívének jobb pitvari, jobb kamrai, illetve szeptális régióiban.

Mindemellett közel szignifikánsan emelkedett a bal kamrai fibrotikus elváltozás szintje. Bár ez a fajta strukturális rendellenesség a legtöbb esetben nem mutatható ki az általánosan használt nem invazív módszerekkel, fontos szem előtt tartani, hogy hatással van a re-entry szívritmuszavarok kialakulására. Ezért a szívizomfibrozis, mint aritmia szubsztrátum, életveszélyes szívritmuszavarokra kialakulására hajlamosíthat. Mivel munkahipotézisünk a hosszú távú intenzív edzés következtében bekövetkező elektrofiziológiai elváltozásokra összpontosított, nem határoztuk meg a szívfibrozis biológiai markereit vagy a kiváltó okokat. Emellett érdemes megjegyezni, hogy a magasan edzett állóképességi sportolók hajlamosak a pitvarfibrillációra. A pitvarokon belüli fibrotikus változások hozzájárulhatnak a szupraventrikuláris aritmiák kialakulásához.

4.2.2 A krónikus állóképességi edzés által kiváltott nyugalmi bradycardia és a szívfrekvencia-variabilitás ütésről ütésre változó paramétereinek vizsgálata

Az edzés indukálta nyugalmi bradycardia a sportolók körében és az experimentális sportszív modellekben a hosszú távon folytatott nagy intenzitású aerob edzés jól felismerhető elektrofiziológiai jellemzőjének tekinthető. Eredményeink jól korrelálnak az irodalmi adatokkal, mivel az edzett tengerimalacokban jelentős nyugalmi bradycardia alakult ki. Bár a nyugalmi bradycardia általánosnak tekinthető marker, az utóbbi években jelentős vita folyt a kialakulásában szerepet játszó folyamatokról. Egyes tanulmányok a fokozott vagus tónus következményének tekintik, míg más kutatók vitatják kizárólagos szerepét. Utóbbi álláspont szerint a szinusz-csomó (SAN) morfológiai és intrinsic elektromos átépülésének döntő szerepe van és a vagus tónus szerepe feltehetően másodlagos vagy teljesen elhanyagolható. Korábbi kutatási eredményeink alátámasztják a SAN régió átépülését kutya sportszív modellben. Az edzett tengerimalacokban kapott eredményeink azonban ellentmondani látszanak az utóbbi álláspontnak, mivel nem észleltünk különbséget a spontán szívfrekvenciában a csoportok között az *ex vivo* Langendorff-kísérletek során. Eredményeink alátámasztják azt a hipotézist, miszerint kisállat sportszív modellünkben a hosszú távú állóképességi edzés következtében a paraszimpatikus tónus jelentős mértékben megemelkedett. Bár nem ismerjük az eredményeink és más vizsgálatok között megfigyelt különbségek pontos okait, ezek feltehetően módszertani és faji különbségeknek tulajdoníthatók.

A sportolók általában nagyobb szívfrekvencia-variabilitással rendelkeznek, mint edzetlen társaik: a megnövekedett szívfrekvencia-variabilitás, amelyhez csökkent nyugalmi pulzusszám társul, jellemzően azt jelzi, hogy az egyén képes effektíven megbirkózni az edzés következtében jelentkező terheléssel. Vizsgálataink rámutattak arra, hogy az edzett tengerimalacoknál, jelentős nyugalmi bradycardia mellett, szignifikánsan megemelkedett szívfrekvencia-variabilitási paraméterek alakultak ki, ami az alkalmazott edzés protokoll

hatékonyságára utal. A szívfrekvencia-variabilitási paramétereket gyakran tekintik a paraszimpatikus tónus markereinek. Következésképpen *in vivo* és *in vitro* eredményeink alátámasztják azt az elképzelést, hogy az éber, edzett tengerimalacok esetében a megnövekedett szívfrekvencia-variabilitási paraméterekkel kísért nyugalmi bradycardia feltehetően az állóképességi edzés által kiváltott fokozott paraszimpatikus aktivitás eredménye.

4.2.3 A hosszú távú állóképességi edzés hatása a kamrai depolarizációra és repolarizációra *in vivo* és *in vitro* körülmények között

Az *in vivo* EKG eredményeink korrelálnak a humán sportolói adatokkal: az edzésprotokoll végére jelentős mértékű QT-intervallum-meghosszabbodás mutatkozott. Az éber, edzett állatok QTc-je enyhén, de szignifikánsan megnövekedett, emellett az edzés protokoll végén enyhén emelkedett STV-QT variabilitási paramétert figyeltünk meg. Érdekes módon az éber, edzett tengerimalacoknál észlelt QT-intervallum-meghosszabbodás lenyomatát *in vitro* körülmények között nem detektáltuk. A QT-intervallum időtartama az *ex vivo* Langendorff-vizsgálatokban nem különbözött a csoportok között. Így feltehetően az *in vivo* tapasztalt QT- intervallum meghosszabbodás a fokozott paraszimpatikus tónusból eredő, edzés által kiváltott nyugalmi bradycardia következménye. Megfigyelésünket továbbá alátámasztja, hogy sem az API, sem az STV-API nem változott az edzett tengerimalacok enzimatikusan izolált bal kamrai szívműködésében a kontrol állatokhoz képest. A közelmúltban publikált, nagyállat sportszív modellünkben az edzett kutyákban szignifikánsan megnyúlt QT- és QTc-intervallumok mellett megnyúlt API és STV-API alakult ki. Mindemellett az edzett kutyák bal kamrai szívműködésében detektált csökkent I_{to} -áram amplitúdója hozzájárulhat a repolarizáció *in vivo* és *in vitro* kísérletekben is megfigyelt meghosszabbodásához. Mivel a tengerimalacszív bal kamrai szívműködésében nem található meg az I_{to} -áram, ez korlátozhatja modellünk elektrofiziológiai transzlációs értékét. A tengerimalac bal kamrai szívműködésében a fő repolarizációs frekvencia függő áram az I_{Ks} , amely az I_{Kr} -áramnál nagyobb jelentőséggel bírhat a tengerimalacszív repolarizációjában. Sejtelektrofiziológiai mérési eredményeink alapján az I_{Ks} -áram amplitúdója nem különbözött a vizsgált csoportok között. Érdemes megjegyezni, hogy nagyállat sportszív modellünkben eredményeihez hasonlóan sem az I_{Ks} , az I_{NaL} és az I_{NCX} áramok amplitúdója sem különbözött szignifikánsan a csoportok között. Nem zárható ki az a lehetőség, miszerint az éber, edzett tengerimalacok esetében más, jelen kutatásban nem vizsgált transzmembrán ionáramok szabályozása is hatással lehet a QT-intervallum és annak variabilitási paramétereinek megváltozására. Feltehetően a repolarizáció szempontjából a fajok közötti elektrofiziológiai különbségek korlátozhatják kisállat modellünk transzlációs értékét az emberi szívre.

A PQ-intervallum távolsága ugyan mutatott némi növekedést az éber, edzett tengerimalacokban, azonban ez nem volt statisztikailag szignifikáns. Ez a tendenciózus változás feltehetően a fokozott vagus tónusnak tulajdonítható, azonban ennek meghatározására további vizsgálatok szükségesek. Korábbi nagyállat sportív tanulmányunkhoz hasonlóan az éber, edzett tengerimalacok szívében a krónikus edzés szignifikánsan kiszélesedett QRS-komplex kialakulásához vezetett. Az EKG-n látható kiszélesedett QRS-komplex elektromos vezetési rendellenességre utal, amely fokozott aritmiás kockázatot hordoz magában. Mivel a tudatosan edzett tengerimalacoknál megfigyelt kiszélesedett QRS-komplex, illetve ennek a jelenségnek az *ex vivo* Langendorff-kísérletekben tapasztalt hiánya nem teljesen tisztázott, így a kérdés teljeskörű megválaszolásához elengedhetetlenek a további vizsgálatok.

4.3 A kannabidiol hatása a szív transzmembrán ionáramaira

Az elmúlt években a CBD-t mint gyógyszert széles körben alkalmazták különböző kórképekben, mindemellett mint étrend-kiegészítő világszerte egyre népszerűbbnek számít. Habár farmakokinetikai tulajdonságait több tanulmány is vizsgálta, a kardiovaszkuláris mellékhatásokkal összefüggésbe hozható elektrofiziológiai jellemzői, nevezetesen a szív transzmembrán ionáramaira gyakorolt elektrofiziológiai hatása csupán részlegesen ismert. Ezért munkánk során célul tűztük ki a CBD különböző transzmembrán ionáramokra gyakorolt hatásának vizsgálatát.

Az alacsonyabb (1, 2,5, 5 μM) és magasabb (10 μM) koncentrációk alkalmazása az I_{Kr} -áram amplitúdójának jelentős csökkenéséhez vezetett natív nyúl bal kamrai szívműködő sejtekben. Az I_{Kr} amplitúdójának szignifikáns depressziója mellett a CBD alacsonyabb, illetve legmagasabb alkalmazott koncentrációi az I_{Ks} -áramot is jelentős mértékben gátolta. Továbbá vizsgálataink rávilágítottak arra, hogy a CBD különböző koncentrációkban (1, 2,5, 5, 10 μM) szignifikánsan gátolta az I_{to} -áramot natív kutya bal kamrai szívműködő sejteken. Azonban 10 μM CBD jelenlétében sem mutatkozott gátló hatás a nyúl szívizomból izolált bal kamrai szívműködő sejteken. Ez a különbség az I_{to} -csatorna pórusképző fehérje alegységek jelentős fajfüggő expressziójának tulajdonítható. Irodalmi adatok alapján a kutya modell vélhetően nagyobb transzlációs értékkel bír a humán szív szempontjából. Celluláris elektrofiziológiai vizsgálataink alapján bizonyítást nyert, hogy a CBD gyengíti a szív repolarizációs tartalmát: a különböző kifelé irányuló káliumcsatorna egyidejű gátlása API-megnyúlást és következetesen QT-intervallum meghosszabbodást eredményezhet. Mindemellett 10 μM CBD alkalmazását követően az I_{CaL} - és az I_{NaL} -áramok amplitúdója szignifikánsan csökken. Ezek a megfigyeléseink összhangban állnak az irodalmi adatokkal. A 10 μM CBD inward áramokra gyakorolt gátló hatása ellensúlyozhatja az egyidejűleg több káliumcsatorna gátlásával létrejött repolarizációs megnyúlást.

4.4 A kannabidiol alkalmazásának következményeként fellépő malignus kardiovaszkuláris események

A CBD nem szerepel a Nemzetközi Doppingellenes Ügynökség tiltó listáján, ezért vélt vagy valós jótékony hatásai miatt napjainkban az amatőr és az elit atléták széles körben alkalmazzák különböző étrend-kiegészítők formájában. Növekvő népszerűségének ellenére, egyes tanulmányok felhívják a sportolók figyelmét arra, hogy kerüljék a CBD alkalmazását mindaddig, míg további kutatási adatok kielégítően bizonyítják a szer hatékonyságát és ártalmatlanságát. Eredményeink alapján az I_{Kr} , I_{Ks} és I_{To} gátlás EC_{50} értékei 4,9, 3,1, illetve 5 μM voltak. Ezek az EC_{50} értékek magasabbak, mint a klinikai vizsgálatokban részt vevő egyéneknél megfigyelt C_{max} értékek. Kutatási eredményeink alapján feltételezhető, hogy fiziológiás körülmények között, egészséges egyéneknél a CBD proaritmiás kockázata kicsi vagy elhanyagolható. Mindazonáltal, ezt a szert megfelelő körültekintéssel kell alkalmazni olyan esetekben, amikor társbetegségek miatt vagy a CBD metabolizmusát gátló egyéb gyógyszerek egyidejű alkalmazása esetén magasabb C_{max} -értékek alakulhatnak ki. Abban az esetben, mikor a CBD bevitelét a szív repolarizációját befolyásoló farmakológiai szerekkel kombinálják, valamint bizonyos patofiziológiás állapotokban, mikor a szív repolarizációs tartaléka gyengül vagy a gyógyszer-metabolizmus károsodik, a CBD additív hatást fejthet ki, tovább növelve a pro-aritmiás kockázatot és a hirtelen szívhalál kialakulásának kockázatát.

Számos klinikai vizsgálat megfigyelései bizonyítják, hogy a krónikus, nagy intenzitású testmozgást végző sportolók hajlamosabbak a szívritmuszavarok kialakulására, amelyek ritkán akár végzetes kimenetelűek is lehetnek. Figyelembe véve a dolgozatomban bemutatott tengerimalacokon végzett kísérleteket, valamint a korábbi munkánkban edzett kutyákon végzett eredményeinket, fontos megjegyezni, hogy a hosszú távú, magas intenzitású állóképességi edzés következményében jelentkező szív remodelláció és a CBD alkalmazásának következményeként jelentkező elektrofiziológiai hatások additívak lehetnek, és életveszélyes szívritmuszavarokhoz kialakulásához vezethetnek. Ezért a CBD-tartalmú termékeket megfelelő óvatossággal kell használni. A CBD kardiovaszkuláris hatásai feltehetően csak részben tulajdoníthatók a szív transzmembrán ioncsatornákra gyakorolt hatásainak. Éppen ezért további *in vivo* és *in vitro* vizsgálatokra van szükség a CBD és más kannabinoidok káros kardiovaszkuláris hatásainak feltérképezésére, különös tekintettel a különböző kannabinoid- tartalmú termékek előny-kockázat értékelésére.

4.5 Az ibuprofén terápiás koncentrációjának hatása a szív transzmembrán ionáramaira

Annak ellenére, hogy az ibuprofén már régóta az egyik leggyakrabban használt vény nélkül kapható és receptre felírt nem-szteroid gyulladáscsökkentő gyógyszer (NSAID) a piacon,

elektrofiziológiai jellemzőit kevéssé ismerjük. Ezért munkánk során célul tűztük ki az ibuprofén alkalmazásának következtében fellépő elektrofiziológiai hatások vizsgálatát *in vitro* körülmények között.

Vizsgálatunkban 250 μM (51,5 $\mu\text{g/ml}$) mérsékelten, de szignifikánsan csökkentette az I_{to} -áram amplitúdóját. Kutatómunkánk továbbá rávilágított arra, hogy 250 μM ibuprofén szignifikánsan gátolta az I_{Kr} -áramot a kutya bal kamrai myocitákban. Azonban a szer alkalmazott koncentrációja sem az I_{K1} -áram kinetikáját, sem a mért amplitúdót nem befolyásolta. Mivel a szív repolarizációját nemcsak a kifelé irányuló káliumáramok határozzák meg, megvizsgáltuk az ibuprofén hatását az I_{NaL} - és az I_{CaL} -áramokra kutyaszívből izolált balkamrai szívizomsejteken: 250 μM ibuprofén mérsékelten, de statisztikailag szignifikánsan csökkentette mindkét befelé irányuló transzmembrán ionáram amplitúdóját. Vizsgálataink alapján normál körülmények között terápiásan releváns dózisban az ibuprofén nem vagy csak mérsékelten hosszabbította meg a repolarizációt, de olyan helyzetekben, amikor a repolarizációs tartalék eredendően gyengült, a repolarizációs megnyúlás mértéke tovább nőhet. Egy korábbi vizsgálat rámutatott arra, hogy az ibuprofén dózisfüggően rövidítette az API-ot és az effektív refrakter periódust a gyors és lassú válasz akciós potenciálok tengerimalac kamrai papilláris izom preparátumokban. Az említett eredmények alapján feltételezhető, hogy a Na^+ és Ca^{2+} transzmembrán ioncsatornákat az ibuprofén dózisfüggően gátolja. Vizsgálatunkban megerősítettük az ibuprofén I_{CaL} és I_{NaL} gátló hatását. Ezzel ellentétben patkányok szívének bal kamrai szívizomsejtjein végzett vizsgálat szerint a diklofenák igen, azonban az ibuprofén nem vezet az inward áramok amplitúdójának gátlásához. A felsorolt vizsgálatok és saját eredményeink közötti eltérések a használt fajok (pl. nyúl, újszülött patkány vagy kutya) eltérő elektrofiziológiai jellemzőinek és a különböző kísérleti körülményeknek (szobahőmérséklet vs. 37 °C) tulajdonítható. A kutya bal kamrai elektrofiziológiai jellegzetességeivel ellentétben a tengerimalac bal kamrai szívizom sejtjei nemcsak a natív I_{to} -áram teljes hiánya, hanem az I_{Ks} -áram karakteres tulajdonságai miatt is egyedülálló. Az ibuprofén I_{CaL} és I_{NaL} -áramokra gyakorolt gátló hatása a tengerimalac kamrában megváltoztatja a kifelé és befelé irányuló áramok egyensúlyát, kedvezve a kifelé irányuló áramok relatív erősödésének, ami rövidült repolarizációt eredményez. Ezzel ellentétes hatás várható a nyúl- és kutyaszív bal kamrájának középső-myocardialis régiójában, ahol az I_{Ks} -áram gyengébb, és az I_{Kr} -áram jelentősebb mértékben járul hozzá a repolarizációhoz. Emellett jól ismert, hogy az I_{to} kulcsfontosságú szabályozó áram a szív midmyocardiális sejtjeinek megfelelő platófázis morfológiával rendelkező akciós potenciálok kialakításában és a repolarizációban. Következésképpen az I_{Kr} és az I_{to} együttes gátlása gyengébb repolarizációs tartalékhoz vezethet.

4.6 Az ibuprofén alkalmazásával összefüggésbe hozható fokozott aritmiás kockázat

Egy nemrégiben végzett vizsgálat arról számolt be, hogy két NSAID, nevezetesen a diklofenák és az ibuprofén alkalmazása a kórházon kívüli szívmegeállás és az azt követően fellépő hirtelen szívhálál fokozott kockázatával jár. A különböző NSAID-ok nemcsak a fájdalomcsillapítás, hanem a fájdalomtűrés fokozása és a gyorsabb felépülés szempontjából is lehetőséget nyújtanak az amatőr és profi sportolóknak, hogy fokozzák teljesítményüket. Egyes tanulmányok arról számoltak be, hogy az NSAID-ok használata, különösen az ibuprofén, igen gyakori az állóképességi sportolók (pl. maratoni futók és futballisták) körében, akik a kívánt hatás eléréséhez naponta alkalmazzák ezeket a szereket. A szakirodalom szerint gyakran az ajánlott terápiás adagnál nagyobb dózisu ibuprofént juttatnak szervezetükbe. Egy nemrégiben közzétett felmérés alapján például a Parkrun UK futóversenyen részt vevő futók közel 90%-a használt NSAID-okat, általában vény nélkül kapható ibuprofén formájában. Ráadásul a hatékonyabb versenyzéshez legtöbbjük közvetlenül a verseny előtt, alatt és után is használta ezeket a szereket a keletkezett fájdalom enyhítésére. Annak ellenére, hogy egyre több értékes adat bizonyítja, hogy az ibuprofén és más NSAID-ok edzés előtti fogyasztása semmilyen előnnyel nem jár, sőt a gasztrointesztinális rendszer károsodásához vezet, a malignus kardiovaszkuláris eseményekre kevésbé hívják fel a figyelmet. Csak néhány tanulmány mutatott rá arra, hogy ezeknek a gyógyszereknek a nagyobb dózisu és/vagy krónikus alkalmazása növeli a káros kardiovaszkuláris események kockázatát, beleértve a szívinfarktust és a hirtelen szívmegeállás előfordulását. Ugyan ezeknek a tragikus eseményeknek a hátterében számos mechanizmus húzódhat meg, figyelembe kell venni ezeknek a gyógyszereknek a transzmembrán ioncsatornákra gyakorolt közvetlen modulációját is.

Vizsgálatunkban az ibuprofén alkalmazott koncentrációja viszonylag jól illeszkedett a betegek terápiás tartományához. Sejtelektrofiziológiai eredményeink igazolják, hogy az ibuprofén normál körülmények között viszonylag biztonságos gyógyszernek tekinthető. Bizonyos, gyengített repolarizációs tartalékkal jellemezhető körülmények között, mint például a dolgozatban is bemutatott sportszív modell, az ibuprofén fokozhatja a proaritmiás kockázatot, sőt hozzájárulhat a káros kardiovaszkuláris események, például a ritmuszavarok, sőt a hirtelen szívmegeállás előfordulásának gyakoriságához. Tekintettel arra, hogy az ibuprofén egy általánosan használt vény nélkül kapható gyógyszer, amelyet emberek milliói szednek naponta orvosi felügyelet nélkül, ezt a proaritmiás kockázati lehetőséget is figyelembe kell venni.

5. KONKLÚZIÓ

Doktori értekezésem legfontosabb új eredményei a következők:

1. Az edzett tengerimalacokban a hosszú távú állóképességi edzés csökkenti a repolarizációs tartalékot, de a sportolói szív más kísérletes állatmodelljeivel ellentétben ez

elsősorban a krónikus állóképességi edzés által kiváltott fokozott vagus tónusnak, nem pedig az elektrofiziológiai átépülésnek tulajdonítható.

2. A különböző sportszív állatmodellekhez és a humán adatokhoz hasonlóan a hosszú távú nehéz állóképességi edzés jelentős mértékű szívizomfibrózist idézett elő az edzett tengerimalacokban, ami fokozhatja a proaritmias kockázatot.

3. A kannabidiol (CBD) csökkenti számos transzmembrán ionáram, beleértve az I_{to} -, I_{Kr} -, I_{Ks} -, I_{CaL} - és I_{NaL} -áramok amplitúdóját, ami mérsékelheti a kamrai repolarizációs tartalékot.

4. Az ibuprofén csökkenti a különböző transzmembrán ionáramok, beleértve az I_{to} -, az I_{CaL} és az I_{NaL} amplitúdóját, ami a kamrai repolarizációs tartalék csökkenéséhez vezethet.

A jelen tanulmány egy új, tengerimalacok edzésével kiváltott sportszív modellt mutatott be. Modellünkben, az állóképességi edzést folytató sportolókhoz hasonló változás következett be: a hosszútávú állóképességi edzés következményeként a megnövekedett volumenterhelés a bal kamrai végdiasztolés átmérő növekedéséhez és a szívizom mérsékelt megnagyobbodásához vezetett. Emellett enyhe fibrózis is jelentkezett, amely a közelmúltban publikált tanulmányok szerint a humán sportszívben is előfordulhat. Az edzésprogram elektrofiziológiai változásokat is eredményezett az éber edzett tengerimalacokban: az *in vivo* tapasztalt nyugalmi bradycardia és a megnövekedett szívfrekvencia-variabilitási paraméterek a változatlan *ex vivo* eredményekkel együtt magasabb nyugalmi vagus tónusra utalnak. A QRS-intervallum kiszélesedése az éber edzett állatokban a szív strukturális és funkcionális átépülésével hozható összefüggésbe. A csökkent nyugalmi szívfrekvencia miatt jelentősen meghosszabbodott QT- intervallum a fokozott vagus tónus eredményeként jelentkezhetett az edzett állatokban. A megfigyelt QT-intervallum megnyúlás mellett az éber edzett tengerimalacoknál enyhén megnövekedett QT-variabilitási paraméterek alakultak ki, ami sérült repolarizációra és nagyobb repolarizációs instabilitásra utalhat.

Ezek a megfigyelések nem feltétlenül jelzik azt, hogy a versenyszintű az állóképességi edzés káros, hiszen a testmozgás jótékony hatására vonatkozó bizonyítékok vitathatatlanok. Azonban bizonyos egyéneknél vagy olyan helyzetekben, ahol a repolarizációs rezerv rejtett betegségek, például hypertrophias cardiomyopathia, hosszú QT-szindrómák, elektrolit-egyensúlyzavar, doppingerek vagy bármilyen ártalmatlannak tűnő gyógyszer miatt károsodott, a vizsgálatunkban megfigyelt jelentős nyugalmi bradycardia, az *in vivo* tapasztalt depolarizációs és repolarizációs eltérések, illetve az állóképességi edzés által kiváltott enyhe fibrózis további kockázati tényezőket jelenthetnek, amelyeket figyelembe kell venni a versenysportban bekövetkező esetleges tragikus események megelőzése érdekében.

A sportolók mindig újabb és újabb lehetőségeket keresnek, hogy fokozhassák teljesítményüket. Ezért a vágyott cél elérése érdekében gyakran alkalmaznak különböző szereket, például CBD- t vagy NSAID-okat (pl. ibuprofén). A CBD jelentősen befolyásolja szív transzmembrán

ionáramait. Csökkenti a különböző káliumáramok amplitúdóját, amelyek mindegyike kiemelkedő szereppel bír a bal kamrai repolarizációban. A CBD szignifikánsan csökkentette az enzimatikusan izolált bal kamrai szívizomsejtek I_{to-} , I_{Kr-} és I_{Ks-} áramok amplitúdóit alacsonyabb (1, 2,5, 5 μM) és magasabb (10 μM) koncentrációkban. A több káliumáram egyidejű gátlása meghosszabbodott akciós potenciál időtartamot és következetesen meghosszabbodott QT-intervallumot idézhet elő. Mindemellett kutatási eredményeink rávilágítottak arra, hogy a repolarizáció potenciális meghosszabbodását ellensúlyozhatja a 10 μM CBD I_{CaL-} és I_{NaL-} áramokra gyakorolt gátló hatása. Az alacsonyabb CBD koncentrációk oly mértékben gyengíthetik a szív repolarizációs tartalékát, amely fokozott aritmiás kockázattal járhat, kedvezve a szívritmuszavarok kialakulásának, sőt akár hirtelen szívhalálhoz is vezethet.

Kutatási eredményeink bizonyítják, hogy az ibuprofén terápiás koncentrációban csekély mértékben gátolja a szív különböző transzmembrán ionáramait beleértve az I_{to-} , I_{NaL-} és I_{CaL-} áramokat. Így az ibuprofén normál körülmények között viszonylag biztonságos szernek tekinthető. Ennek ellenére a különböző OTC-termékek elérhetőségének köszönhetően az ibuprofén alkalmazott dózisa könnyen meghaladhatja a terápiás tartományt. Bizonyos, gyengült repolarizációs tartalékkal jellemezhető állapotokban az ibuprofen fokozhatja a proaritmiás kockázatot, sőt hozzájárulhat a klinikai vizsgálatokban megfigyelt hirtelen szívhalál előfordulásának gyakoriságához. Ezt a lehetőséget számításba kell venni a klinikai gyakorlatban, mivel az ibuprofent naponta több millió ember szedi orvosi ellenőrzés nélkül.

Kutatási eredményeiket összegezve, ezeket a szereket a sportolóknak megfelelő óvatossággal kell alkalmazniuk, mivel gyengíthetik a repolarizációs rezervet, és a hosszú távú erőteljes edzésből eredő szívszerkezeti-elektrofiziológiai átépüléssel együtt életveszélyes ritmuszavarok kialakulásához vezethetnek.

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 vezetőjének, hogy PhD-hallgatóként lehetőséget biztosított a tudományos kutatásra az intézetben. Köszönöm Dr. Dux László professzor úrnak, a Multidiszciplináris Orvostudományi Doktori Iskola vezetőjének, amiért lehetővé tette, hogy tanulmányaimat az egyetemen folytathassam.

Őszinte hálámat szeretném kifejezni mindenkori témavezetőimnek, Dr. Varró András professzor úrnak és Dr. Jost Norbert professzor úrnak, az útmutatásaikért, a munkám folyamatos támogatásáért és azért, hogy bevezettek a szív sejtes elektrofiziológiájának lenyűgöző világába. Mindemellett köszönöm, hogy megtanítottak a tudományos munkában szükséges szakmai készségekre és a kritikus gondolkodásra. Ösztönző lelkesedésük, kedvességük és folyamatos támogatásuk végigkísérte doktori tanulmányaimat. Hálás vagyok Dr. Varró András professzor úrnak az inspiráló beszélgetésekért és a sok kiváló tanácsért. Köszönöm dr. Virág Lászlónak, hogy rámutatott arra, hogy a kísérleteket miként kell a megfelelő körültekintéssel elemezni.

Hálás vagyok legközelebbi kollégáimnak és egyben barátaimnak, dr. Polyák Alexandrának, dr. Pintér Jenőnek, dr. Tóth Noéminek és Kosztka Máriának a támogatásukért, segítségükért és munkájukért az évek során. Szakértelmük, örökös kíváncsiságuk és kitartásuk nélkül szerényebb lett volna a fent bemutatott tudományos munka.

Szeretném megköszönni munkatársaimnak, dr. Nagy Zsófiának, dr. Nagy Norbertnek, valamint diáktársaimnak, Bitay Gergőnek, Mohácsi Gábornak, dr. Tóth Noéminek, dr. Mohammed Aiman Saleh Abdullahnak és dr. Muhammad Naveed Khannak, hogy folyamatosan támogatták és segítettek munkámat, és hogy vidám és miliőt teremtettek a laboratóriumban.

Köszönöm a közös munkát a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet minden munkatársának. Külön köszönöm az adminisztratív és technikai segítségnyújtást Fritz Reának, Kőrös Anikónak, Girst Gábornak, Dobai Gábornak, Tóth Zsoltnak és Motzwickler Róbertnek.

Mindenekelőtt mérhetetlen hálával tartozom családomnak és barátaimnak. Köszönöm édesanyámnak, Évának, nagyapámnak, Istvánnak, nagynénémnek, Erikának és örökké mosolygós unokatestvéremnek, Baláznak a végtelen szeretetüket, bizalmukat és támogatásukat, amely oly sokat jelentett számomra. Hálás vagyok páromnak, Máténak, hiszen feltétel nélküli szeretete, állandó támogatása, bátorítása és optimista hozzáállása mindvégig segített és inspirált. Szeretetük és soha nem szűnő támogatásuk a nehezebb időszakokon is átsegített, nélkülük ez a munka nem jöhetett volna létre

TÁMOGATÓK

A kisállat sportszív modellhez szükséges munkát a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKHIF K-119992, NKHIF K-128851, NKHIF K- 135464, NKFIH PD-125402, FK-129117, GINOP-2.3.2-15-2016-00047, TKP2021-EGA-32), az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKAFK-138223), az Emberi Erőforrások Minisztériuma (20391-3/2018/FEKUSTRAT és EFOP3.6.2-16-2017-00006), az Eötvös Loránd Kutatási Hálózat (UNKP-20-5-SZTE-165), a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja (UNKP-21-5-SZTE-543), valamint a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem intézményi ösztöndíja (SZTE ÁOK-KKA 2021) támogatta.

A cannabidiol sejtelektrofiziológiai hatásainak vizsgálata a Gazdaságfejlesztési és Innovációs Operatív Program (GINOP-2.3.2-15-2016-00012), a Nemzeti Kutatásfejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH K 119992, NKFIH K 135464 és NKFIH K 128851), az Emberi Erőforrások Minisztériuma Magyarország (20391- 3/2018/FEKUSTRAT és EFOP-3.6.2-16-2017-00006), valamint az Eötvös Loránd Kutatási Hálózat ösztöndíjainak támogatásával készült. A nyílt hozzáférésű finanszírozást a Szegedi Tudományegyetem biztosította.

Az ibuprofén sejtelektrofiziológiai hatásainak vizsgálatát a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja (BO/00581/17), az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-18-4 és 19-4 (Bolyai+) Új Nemzeti Kiválósági Programja és a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH PD-116011, K-119992, FK-129117), az Emberi Erőforrások Minisztériuma (EFOP-3 ösztöndíj. 6.2-16-2017-00006, „LIVE LONGER” és EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009, GINOP-2.3.2.-15-2016-00048), az Emberi Erőforrások Minisztériuma (20391-3/2018/FEKUSTRAT), valamint a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja támogatta. Munkánkat továbbá a GINOP és az EFOP projekteket az Európai Unió és az Európai Regionális Fejlesztési Alap támogatta.