

A miofilamentáris rendszer Ca^{2+} -érzékenysége korrellál a bal kamrai kontraktilitással a fokozott nyomásterhelés által előidézett patológiás szívizom-hipertrófia patkánymodelljében

Ruppert Mihály^{1,2*}, Bódi Beáta^{3*}, Nagy Dávid¹, Korkmaz-Icöz Sevil², Loganathan Sivakkanan², Oláh Attila¹, Barta Bálint András¹, Sayour Alex Ali^{1,2}, Benke Kálmán¹, Karck Matthias², Merkely Béla¹, Papp Zoltán^{3,4}, Szabó Gábor^{2*}, Radovits Tamás^{1*}

¹Semmelweis Egyetem, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Budapest

²Ruprecht-Karls Egyetem, Szívsebészeti Klinika, Kísérleti Kutató Laboratórium, Heidelberg

³Debreceni Egyetem, Klinikai Fiziológiai tanszék, Debrecen

⁴MTA-DE, Vaszkuláris Biológia és Miokardium Patofiziológiai Kutatócsoport, Debrecen

Levelezési cím:

Dr. Ruppert Mihály, Semmelweis Egyetem, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Kardiológiai Központ – Kardiológiai Tanszék, Kísérleti Kutató Laboratórium, 1122 Budapest, Városmajor u. 68. E-mail: ruppertmis@gmail.com

Bevezetés: A bal kamra (BK) hosszan tartó nyomásterhelésének hatására patológiás BK-hipertrófia (BKH) fejlődik ki, amely idővel szívelégtelenség kialakulásához vezethet. Korábbi kísérletes munkák igazolták, hogy a patológiás BKH különböző stádiumaiban jellegzetes változások figyelhetők meg a BK kontraktilitásában és a miofilamentáris rendszer funkciójában egyaránt. Jelen tanulmányunk célja a BK-i kontraktilitás és a miofilamentáris funkció ezen változásai közötti kapcsolat feltárása volt a fokozott nyomásterhelés által indukált BKH patkánymodelljében.

Módszerek: Állatkísérletünkben a fokozott nyomásterhelést az abdominális aorta műtéti beszűkítésével (abdominal aortic banding, AB) biztosítottuk 6, 12, illetve 18 hét időtartamra. A kontrollcsoportokat áloperált állatok alkották. A szív morfológiai és molekuláris változásait echokardiográfias utánkövetéssel, szövettani vizsgálatokkal, kvantitatív valós idejű PCR-rel és Western blot technikával vizsgáltuk. A BK-funkciót nyomás–térfogat-analízissel határoztuk meg. A miofilamentáris rendszer funkcióját permeabilizált szívizomsejteken történő erőmérésekkel vizsgáltuk.

Eredmények: A fokozott nyomásterhelés az aortaszűkített csoportokban jelentős mértékű BKH kialakulását eredményezte, amelyet makroszkópiusan (emelkedett tibiahosszra normalizált szívtömeg és BK-szívtömegindex), mikroszkópiusan (emelkedett szívizomrost-harántátmérő) és génexpressziós szinten (fötális génprogram reaktiváció) egyaránt igazoltunk. Ezen változások már a BKH korai stádiumában jelen voltak (AB-6hét csoport). Emellett az előrehaladottabb stádiumokban (AB-12hét és AB-18hét) a miokardiális fibrózis fokozódása és a kamra dilatációja is megfigyelhetővé vált. Hemodinamikai szempontból az AB-6hét csoportra emelkedett BK-i kontraktilitás, megtartott ventrikulo-arteriális kapcsolat és megőrzött szisztolés kamrafunkció volt jellemző. Ugyanebben a csoportban a miofilamentáris rendszer emelkedett Ca^{2+} -érzékenysége ($p\text{Ca}_{50}$) és a kardiális troponin-I (cTnI) treonin-144 oldalláncának hiperfoszforilációja volt megfigyelhető. Ezzel ellentétben az AB-12hét és AB-18hét csoportokban a megnövekedett BK-i kontraktilitás regresszióját valamint a miofilamentáris rendszer fokozott Ca^{2+} -érzékenységének és a cTnI hiperfoszforilációjának csökkenését

*A szerzők azonos mértékben járultak hozzá a közleményhez

Készült Ruppert et al. J Mol Cell Cardiol 2019 Mar 4; 129: 208–218. közleményének felhasználásával az Elsevier Kiadó írásos engedélyével (1).

sét tapasztaltuk, amely a ventrikulo-arteriális kapcsolás romlásához és szisztolés teljesítménycsökkenéshez vezetett. Erős összefüggést találtunk a BK-i kontraktilitás és a miofilamentáris Ca^{2+} -érzékenység között.

Következtetések: Eredményeink arra utalnak, hogy a miofilamentáris rendszer Ca^{2+} -érzékenységében bekövetkező változások hozzájárulhatnak a BKH progressziója során megfigyelhető kontraktilitásváltozásokhoz.

Kulcsszavak: miokardiális hipertrófia, miofilamentáris funkció, Ca^{2+} -érzékenység, bal kamrai kontraktilitás

Myofilament Ca^{2+} sensitivity correlates with left ventricular contractility during the progression of pressure overload-induced left ventricular myocardial hypertrophy in rats

Aim: Here we aimed at investigating the relation between left ventricular (LV) contractility and myofilament function during the development and progression of pressure overload (PO)-induced LV myocardial hypertrophy (LVH).

Methods: Abdominal aortic banding (AB) was performed to induce PO in rats for 6, 12 and 18 weeks. Sham operated animals served as controls. Structural and molecular alterations were investigated by serial echocardiography, histology, quantitative real-time PCR and western blot. LV function was assessed by pressure-volume analysis. Force measurement was carried out in permeabilized cardiomyocytes.

Results: AB resulted in the development of pathological LVH as indicated by increased heart weight-to-tibial length ratio, $LV_{mass\ index}$, cardiomyocyte diameter and fetal gene expression. These alterations were already present at early stage of LVH (AB-week6). Furthermore, at more advanced stages (AB-week12, AB-week18), myocardial fibrosis and chamber dilatation were also observed. From a hemodynamic point of view, the AB-wk6 group was associated with increased LV contractility, maintained ventriculo-arterial coupling (VAC) and preserved systolic function. In the same experimental group, increased myofilament Ca^{2+} sensitivity (pCa_{50}) and hyperphosphorylation of cardiac troponin-I (cTnI) at Threonine-144 was detected. In contrast, in the AB-wk12 and AB-wk18 groups, the initial augmentation of LV contractility, as well as the increased myofilament Ca^{2+} sensitivity and cTnI (Threonine-144) hyperphosphorylation diminished, leading to impaired VAC and reduced systolic performance. Strong correlation was found between LV contractility parameters and myofilament Ca^{2+} -sensitivity among the study groups.

Conclusion: Changes in myofilament Ca^{2+} sensitivity might underlie the alterations in LV contractility during the development and progression of PO-induced LVH.

Keywords: myocardial hypertrophy, myofilament function, Ca^{2+} sensitivity, contractility

Bevezetés

A bal kamra (BK) hosszan tartó nyomásterhelésének hatására patológiás BK-hipertrófia (BKH) fejlődik ki, amely idővel szívelégtelenség kialakulásához vezethet. A patológiás BKH létrejötté és progressziója során jellegzetes változások figyelhetők meg a BK kontraktilitásában. A kontraktilitás definíció szerint a szívizom elő- és utóterheléstől független összehúzódó képességét jelenti (2). Jelenleg a BK-i kontraktilitás *in vivo* körülmények között történő meghatározására az egyik legjobban elfogadott módszer a nyomás-térfogat analízis (3). Korábbi kísérletes munkák rávilágítottak arra, hogy a nyomás-térfogat analízissel számítható kontraktilitásparáméterek jelentős mértékben fokozódnak a BKH korai stádiumában (4–6). A kontraktilitás növekedése biztosítja, hogy a szív képes legyen kompenzálni az artériás rendszerben uralkodó fokozott utóterhelést (fiziológias ventrikulo-arteriális kapcsolás, VAC) (7). Így a BKH korai stádiumára megtartott szisztolés funkció jellemző.

A témában folytatott alap kutatásoknak köszönhetően szintén ismert, hogy a kontraktilitás korai növekedése

BKH-ban csak ideiglenes alkalmazkodást tesz lehetővé, ugyanis előrehaladottabb stádiumokban a kontraktilitás romlik (6, 8). A kontraktilitás fokozódásának regressziója a változatlanul emelkedett artériás utóterhelés inefektív ellenregulációját eredményezi, amely a szisztolés teljesítmény csökkenésében nyilvánul meg. A közelmúlt kutatási eredményei arra engednek következtetni, hogy a fokozott nyomásterhelés hosszú távú fennállása a BK kontraktilitását nemcsak szervi szinten érinti, hanem a szarkomerfunkcióban is változásokat idéz elő. Megtartott szisztolés funkcióval jellemzett BKH kisállatmodelljében a miofilamentáris rendszer Ca^{2+} -érzékenységének (pCa_{50}) fokozódást figyelték meg (9). A BKH előrehaladottabb stádiumaiban viszont súlyosan károsodott szisztolés funkciót és a miofilamentáris Ca^{2+} -érzékenység valamint a maximális szarkomer erő (F_{max}) csökkenését írták le (10, 11).

A permeabilizált szívizomsejteken végzett *in vitro* erőmérések és az *in vivo* BK-i nyomás-térfogat analízis alapján felmerül, hogy a BKH progressziója során dinamikus változások játszódnak le a szarkomerfunkcióban is (pCa_{50} és/vagy F_{max}). Korábbi tanulmányok ugyanak-

kor nem vizsgálták a permeabilizált szívizomsejtek működésében bekövetkező stádiumfüggő változásokat. Szintén nem ismert kísérletes eredmény a BK-i kontraktilitás és a miofilamentáris funkció közötti kapcsolat jellemzéséről BKH-ban.

Fentiek alapján, jelen patkánykísérletünk célja a BK-i kontraktilitás és a miofilamentáris funkció egyidejű meghatározása volt fokozott nyomásterhelés által indukált BKH kialakulása és progressziója során.

Módszerek

Állatok

Sprague–Dawley-patkányokat (n=67; 5-6 hetes korú; 160-180 g súlyú; Janvier, Franciaország) szabványos laboratóriumi körülmények között tartottunk. Vizsgálatainkat a kísérleti állatok tartásáról és felhasználásáról szóló nemzetközi szabályoknak (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, US National Institutes of Health 1996; 85–23) megfelelően végeztük, a Baden-Württembergi állatetikai bizottság külön engedélyével (engedély kódja: G-94/15).

A hasi aorta műtéti beszükitése: abdominális aortic banding

Egyhetes akklimatizációs idő leteltével az állatokon hasi aorta műtéti beszükitését (abdominális aortic banding; AB) vagy áloperációt (Sham) hajtottunk végre (7). Az AB operáció során az aorta abdominális szakaszát, a suprarenalis síkban egy 22 G-s tű külső átmérőjével megegyező szélességűre szűkítettük (n=39). A Sham-állatok (n=28) azonos eljárás mentek keresztül, az aorta beszükitésétől eltekintve. A műtét után jelentkező fájdalom csillapítására buprenorfin (0,05 mg/kg dózisban) injekciót alkalmaztunk.

Kísérleti csoportok

A műtétet követően állatainkat az alábbi hat csoportba osztottuk:

1. AB-6hét (n=13): a csoport tagjait az aortaszűkítést követően 6 hétig,
2. Sham-6hét (n=9): a csoport tagjait az áloperációt követően 6 hétig,
3. AB-12hét (n=13): a csoport tagjait az aortaszűkítést követően 12 hétig,
4. Sham-12hét: (n=9): a csoport tagjait az áloperációt követően 12 hétig,
5. AB-18hét (n=13): a csoport tagjait az aortaszűkítést követően 18 hétig,
6. Sham-18hét: (n=10): a csoport tagjait az áloperációt követően 18 hétig követték.

Echokardiográfia

A vizsgálatokat a korábbiakban ismertetett protokoll alapján hajtottuk végre (7). Az ultrahangos felvételeket izoflurán anesztézia mellett, a Vevo® 2100-as rendszerhez (FujiFilm VisualSonics Inc. Toronto, Ontario,

Kanada) kapcsolt 21 MHz-es lineáris fejjel végeztük. Kétdimenziós parasternalis hosszú és rövid, valamint a papilláris izmot középen metsző M-módú felvételeket készítettünk, majd ezeket szoftveres kiértékelésnek vetettük alá. Méréseinket a műtétek előtt (baseline időpillanat) majd a műtétet 3, 6, 9, 12, 15 és 18 héttel követően hajtottuk végre az AB-18hét és a Sham-18hét csoportokban. A következő paramétereket határoztuk meg: BK elülső falvastagság (AWT), BK hátulsó falvastagság (PWT) diasztolében (d) és szisztolében (s), valamint BK végdiasztolés- (LVEDD) és végszisztolés (LVESD) belső átmérő. Minden mérést háromszor hajtottunk végre, eredményeiket átlagoltuk. A BK-i szívizomtömeget (LV_{mass}) a testtömegre normalizált index ($LV_{mass\ index}$) formájában adtuk meg.

Nyomás-térfogat analízis

A patkányokat izoflurán gáz alkalmazásával elaltattuk, majd tracheotomia és intubáció után mesterségesen lélegeztettük. Az állatok testhőmérsékletét a kísérlet során végig 37 °C-on tartottuk. A hemodinamikai mérést egy nyomás-konduktancia mikrokatéter alkalmazásával (SPR-838, Millar Instruments, Houston, Tx, USA) hajtottuk végre (7). Meghatározásra kerültek: szisztolés (SBP) és diasztolés artériás vérnyomás (DBP), artériás középnyomás (MAP), maximális és minimális dP/dt (dP/dt_{max} , dP/dt_{min}), BK-i végszisztolés (LVESV) és végdiasztolés (LVEDV) térfogatértékek, verőtérfogat (SV), ejekciós frakció (EF), szívfrekvencia (HR), perctérfogat (CO), verőmunka (SW), artériás elasztancia ($[E_a]$), a következő képlet alapján ($E_a = LVESP/SV$) (12), BK aktív relaxáció időkonstans (Tau, a Glantz-képlet alapján) (13). A vena cava inferior kompressziója mellett továbbá a következő kontraktilitás paramétereket számítottuk: végszisztolés nyomás-térfogat kurvilineáris összefüggés meredeksége (ESPVR) (14), verőmunka – végdiasztolés térfogat (EDV) összefüggés meredeksége (az ún. preload recruitable stroke work, PRSW) és a $dP/dt_{max} - EDV$ összefüggés meredeksége ($dP/dt_{max} - EDV$). A miokardiális stiffness-t a végdiasztolés nyomás-térfogat-összefüggés (EDPVR) egyenesének meredekségével jellemeztük. A BK működésének hatékonyságát a ventrikulo-arteriális kapcsolat (VAC) alapján ítéltük meg ($VAC = E_a/ESPVR$) (15). A volumenszignál kalibrációját a korábban leírt módszerrel végeztük (3). A hemodinamikai mérések végeztével az állatokat kivérettetéssel eutanizáltuk. Ezt követően, a szívizomsejtek és a tibiahosszak kerültek meghatározásra, amelyekből a szívizomsejtek tibiahosszra normalizált indexét (HW/TL) számítottuk.

Permeabilizált szívizomsejtek mechanikai vizsgálata

A permeabilizált BK-i szívizomsejtek (n=10-12/csoport) mechanikai tulajdonságait egy speciális erőmérőrendszerrel határoztuk meg 2,3 μm szarkomerhossz mellett. A szívizomsejtek aktív erőértékét ($F_{aktív}$) és Ca^{2+} -érzé-

kenységét (pCa_{50}) maximális, ($pCa=4,75$) és szubmaximális ($pCa=5,2-7,0$) Ca^{2+} -koncentrációk mellett regisztráltuk. A cardiomyocyták Ca^{2+} -független passzív erejét ($F_{passzív}$) relaxáló oldatban mértük ($pCa=9,0$), ahol a sejteket eredeti hosszúságuk 80%-ára rövidítettük. A szubmaximális Ca^{2+} -koncentrációkon regisztrált erőértékeket ($F_{aktív}$) a maximális Ca^{2+} -koncentráción mért aktív erőre ($pCa=4,75$; F_{max}) normalizáltuk, amely megadta a pCa -erő összefüggés szigmoid görbéjét. Minden regisztrált erőértéket normalizáltunk a preparátum keresztmetszetére és az eredményeket kN/m^2 -ben adtuk meg.

Western immunoblot technika

A kardiális troponin I (cTnI) és a kardiális miozin kötő C-fehérje (cMyBP-C) specifikus oldalláncainak foszforiláltságát western blot technikával vizsgáltuk. A mérés során meghatározásra került a cTnI protein kináz A (PKA)-függő (Ser-22/23), és protein kináz-C (PKC)-függő (Ser-43-as és Thr-144) oldalláncainak valamint a cMyBP-C PKA-függő (Ser-282) oldalláncának foszforiláltsági állapota.

Szövettan

Hematoxillin-eozinnal festett metszeteken a cardiomyocyták harántátmérői kerültek meghatározásra [CD], 100 db/metszet (16). A miokardiális fibrózis mértékét picosirius vörössel festett metszeteken vizsgáltuk az ImageJ (Bethesda, MD, USA) szoftver alkalmazásával (17).

BK génexpressziós vizsgálatok

A BK génexpressziós vizsgálatára kvantitatív, valós idejű polimeráz láncreakciót (qRT-PCR) hajtottunk végre (8). A következő gének kifejeződése került meghatározásra: β -típusú miozin nehézlánc (β -MHC), α -MHC, pitvari típusú nátriuretikus peptid (ANP). A génexpressziós adatokat a housekeeping gliceraldehid-3-foszfát-dehidrogenáz (GAPDH) referenciagénre normalizáltuk és az expressziós szinteket a CT komparatív módszerrel ($2^{-\Delta CT}$) számítottuk. Valamennyi értéket pozitív kalibrátorra (a Sham-6hét csoport valamennyi mintájából létrehozott cDNS-pool) normalizálva adtuk meg [$2^{-\Delta\Delta CT}$].

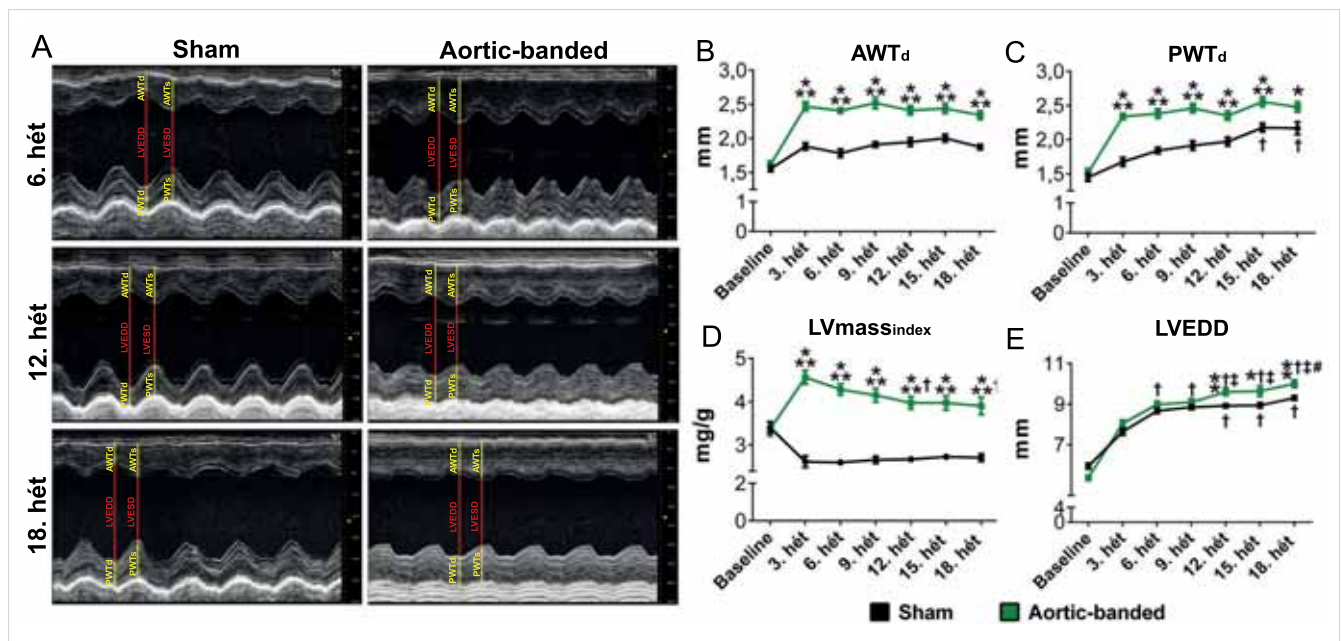
Statisztika

Minden adatot átlagérték \pm SEM formájában adtuk meg. Az adatok normáloszlását Shapiro–Wilk-tesztel és D’Agostino–Pearson omnibus tesztel ellenőriztük.

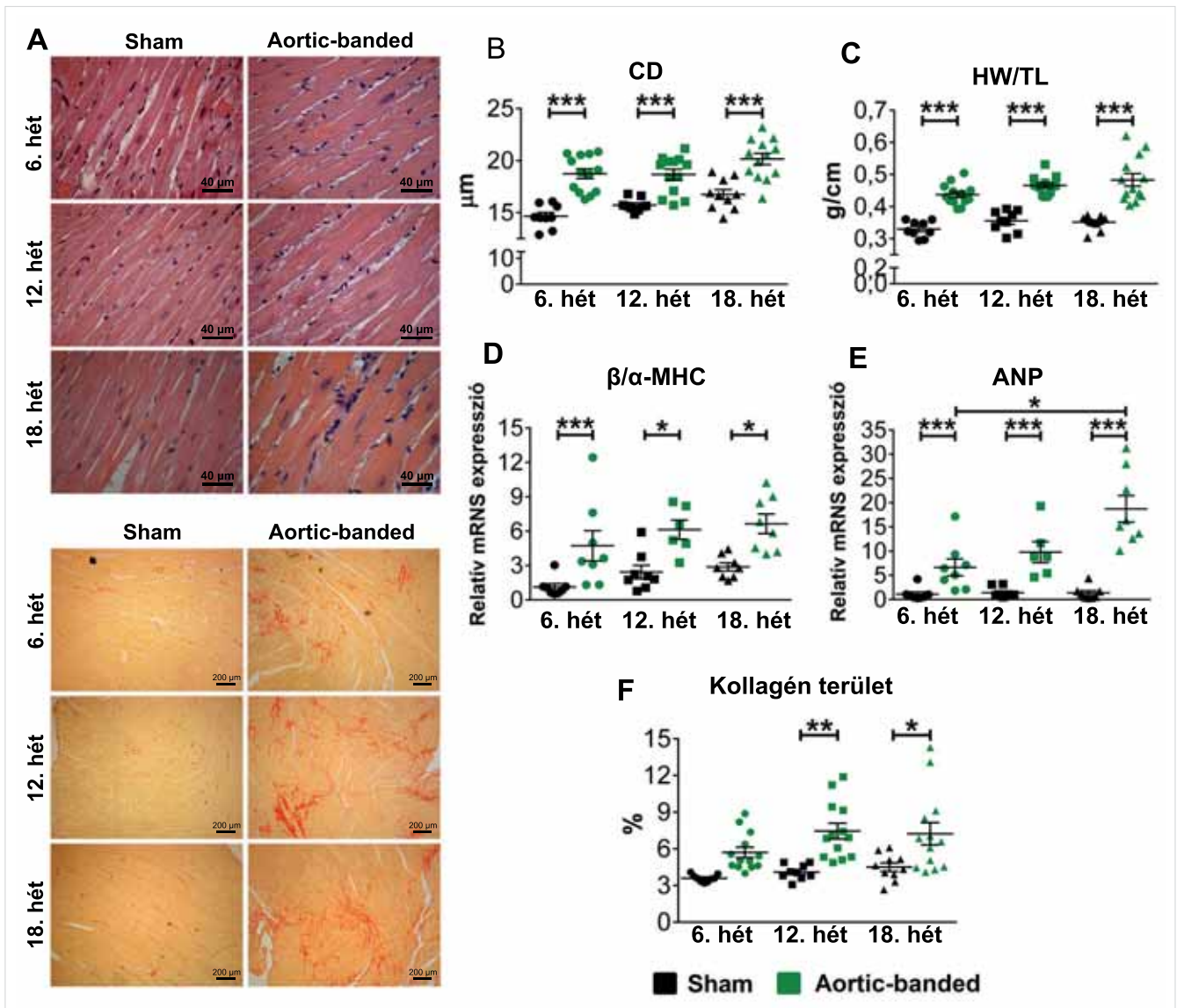
Két független csoport összehasonlítására, normáloszlás esetén párosítatlan kétmintás t-próbát, míg nem normáloszlás esetén Mann–Whitney U-tesztet alkalmaztunk.

6 független csoport összehasonlítására kétutas varianciánálízist ([ANOVA]; idő és aortic banding faktorok alkalmazásával), Tukey-féle post hoc tesztel végeztünk. Azokat az adatsorokat, amelyek nem normáloszlást mutattak, az ANOVA-teszt elvégzése előtt logaritmikusan transzformáltuk.

A sorozatos UH-vizsgálatok eredményeit csoporton belül ismétléses egyutas ANOVA-val (normáloszlás



1. ÁBRA. A fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH ultrahangos követése. A papilláris izom középső harmadának magasságában készített reprezentatív M-módú echokardiográfias felvételek láthatók az aortaszűkített (aortic banding; [AB]) és a kontroll (Sham) csoportokban a 6., 12. és a 18. héten (A). Az aortaszűkített csoportokban a balkamra-hipertrófia (BKH) kialakulására utalt a megnövekedett diasztolében mért elülső (AWTd) (B) és hátsó (PWTd) (C) falvastagság és az emelkedett BK-i szívmotómeg-index ($LV_{massindex}$) (D). Emellett a 12., 15. és 18. héten a BK-i végdiasztolés átmérő (LVEDD) növekedése kamradilatációt jelzett az AB-18hét csoportban. *: $p < 0,05$ vs. megfelelő kontrollcsoport. **: $p < 0,01$ vs. megfelelő kontrollcsoport. ***: $p < 0,001$ vs. megfelelő kontrollcsoport. †: $p < 0,05$ vs. 3. hét. ‡: $p < 0,05$ vs. 6. hét. #: $p < 0,05$ vs. 9. hét



2. ÁBRA. Patológiás hipertrófia és fibrózis markerei a fokozott nyomásterhelés által indukált BKH különböző fázisaiban. A reprezentatív képek hematoxilín-eozin- (200-szoros nagyítás, 40 μm -es jelzőskála) és picrosiriusvörös-festett (50-szeres nagyítás, 200 μm -es jelzőskála) metszetekről készültek. A szövettani képeken jól megfigyelhető, hogy az aortaszűkített (aortic banding; [AB]) csoportokban a szívizomsejtek megnagyobbodtak, illetve az intersticiális kollagén felhalmozódott (A). A szívtömeg/tibiahossz arány (HW/TL) (B) és a cardiomyocytá-harántátmérő (CD) (C) növekedése az AB-6hét, AB-12hét és AB-18hét csoportokban a kontrollcsoportokéhoz képest bizonyította a balkamra-hipertrofia (BKH) kialakulását. A BKH patológiás természetét a főtáls génprogram reaktivációja igazolta az AB csoportokban (fokozott béta/alfa miozin nehézlánc arány [β/α -MHC]) és emelkedett pitvari típusú natriuretikus peptid [ANP] expresszió (D–E). Ezenkívül a 12. és 18. héten a kollagén terület az AB-csoportokban szignifikánsan növekedett a megfelelő kontrollcsoportokhoz képest (F). *: $p < 0,05$. **: $p < 0,01$. ***: $p < 0,001$

esetén), Friedman-tesztel (nem normáloszlás esetén) és Holm-Sidak, illetve Dunn-féle post hoc tesztel vizsgáltuk.

A $p\text{Ca}_{50}$ és az ESPVR, $p\text{Ca}_{50}$ és a PRSW, illetve a $p\text{Ca}_{50}$ és a dP/dt_{max} -EDV-paraméterek közötti esetleges korrelációt Pearson- (normáloszlás esetén) és Spearman- (nem normáloszlás esetén) tesztel vizsgáltuk. A $p < 0,05$ értékeket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Bevezetésre kerültek tovább a $p < 0,01$ és $p < 0,001$ kategóriák is a statisztikai erő jelölése érdekében.

Eredmények

A fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH echokardiográfiás követése

A 3. héttől a kísérlet végéig az AWT_d , PWT_d és $\text{LV}_{\text{mass index}}$ értékek folyamatos növekedést mutattak az AB-18hét csoportban a Sham-18hét csoporthoz képest, amely a BKH kialakulását igazolta (1. B–D ábrák). A 12. a 15. és a 18. héten továbbá a LVEDD is növekedést mutatott, ami a BK dilatációját jelezte (1. E ábra).

Patológiás hipertrófia és fibrózismarkerek

Az AB-6hét, AB-12hét és AB-18hét csoportokban a HW/TL és CD növekedett a megfelelő Sham-csoportokhoz képest (2. B–C ábrák). A β/α -MHC génexpressziós arány és az ANP miokardiális mRNS-expresszió szintén fokozódott az AB-csoportokban (2. D–E ábrák). Ez a főtáris génexpresszió reaktivációját jelezte. A kollagén mennyiségének fokozódása az AB-12hét és AB-18hét csoportokban intersticiális fibrózis kialakulására utalt (2. F ábra).

Miofilamentáris funkció

A pCa_{50} szignifikánsan nőtt az AB-6hét csoportban a Sham-6hét csoporthoz képest, ami a miofilamentum megnövekedett Ca^{2+} -érzékenységére utalt (3. ábra). Az AB-12hét és AB-18hét csoport Ca^{2+} -érzékenysége nem különbözött jelentősen a megfelelő Sham-csoportoktól (3. ábra). Az F_{max} egyik csoportban sem mutatott jelentős eltérést (1. táblázat).

A kardiális troponin-I és a miozin kötő C-fehérje oldallánc-specifikus foszforilációja

A cTnI foszforilációja a Ser-22/23 és a Ser-43 oldalláncokon nem különbözött a vizsgált csoportokban (4. A–B ábrák). Szintén nem találtunk különbséget a cMyBP-C foszforiláltságában a Ser-282 oldalláncban (4. D ábra). A cTnI Thr-144-es oldalláncának foszforiláltsága azonban szignifikánsan emelkedett az AB-6hét csoportban a Sham-6hét, valamint a többi AB-csoporthoz képest (4. C ábra).

Balkamra-funkció

A nyomás-térfogat analízis eredményei az 5–7. ábrákon és az 1. táblázatban látható.

Artériás utóterhelés

Az SBP, DBP, MAP és E_a szignifikánsan emelkedtek az AB-csoportokban a megfelelő áloperált csoportokhoz képest, amely a fokozott nyomásterhelés jelenlétét bizonyítja az aortaszűkítéstől proximális érterületen (1. táblázat).

Konvencionális szisztolés paraméterek

Az AB-6hét csoportban megtartott szisztolés működés volt megfigyelhető. Ennek megfelelően az elő- és utóterheléstől függő szisztolés paraméterek (EF, SV, CO) értékei nem különböztek az AB-6hét csoportban a korban illesztett kontrollcsoport értékeihez képest (1. táblázat). Az AB-12hét és AB-18hét csoportokban viszont az EF szignifikánsan csökkent, míg az SV és a CO csökkenő tendenciát mutatott (1. táblázat).

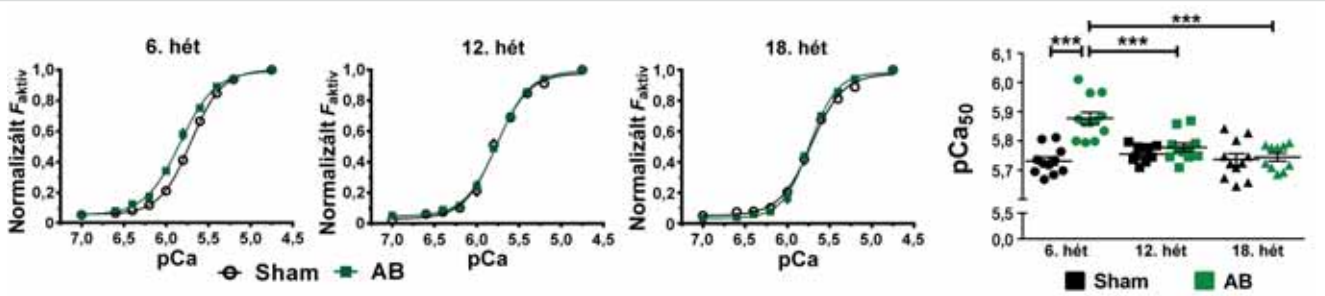
Előterheléstől független BK-i kontraktilitásparaméterek

Az AB-6hét csoportban az ESPVR, PRSW és dP/dt_{max} EDV jelentősen növekedtek a Sham-6hét csoporthoz képest, ami emelkedett BK-i kontraktilitást jelezte (5. A–B, 6. A–B, 7. A–B ábrák). Ez a növekedés nem volt jellemző az AB-12hét és AB-18hét csoportokra (5. A–B, 6. A–B ábrák).

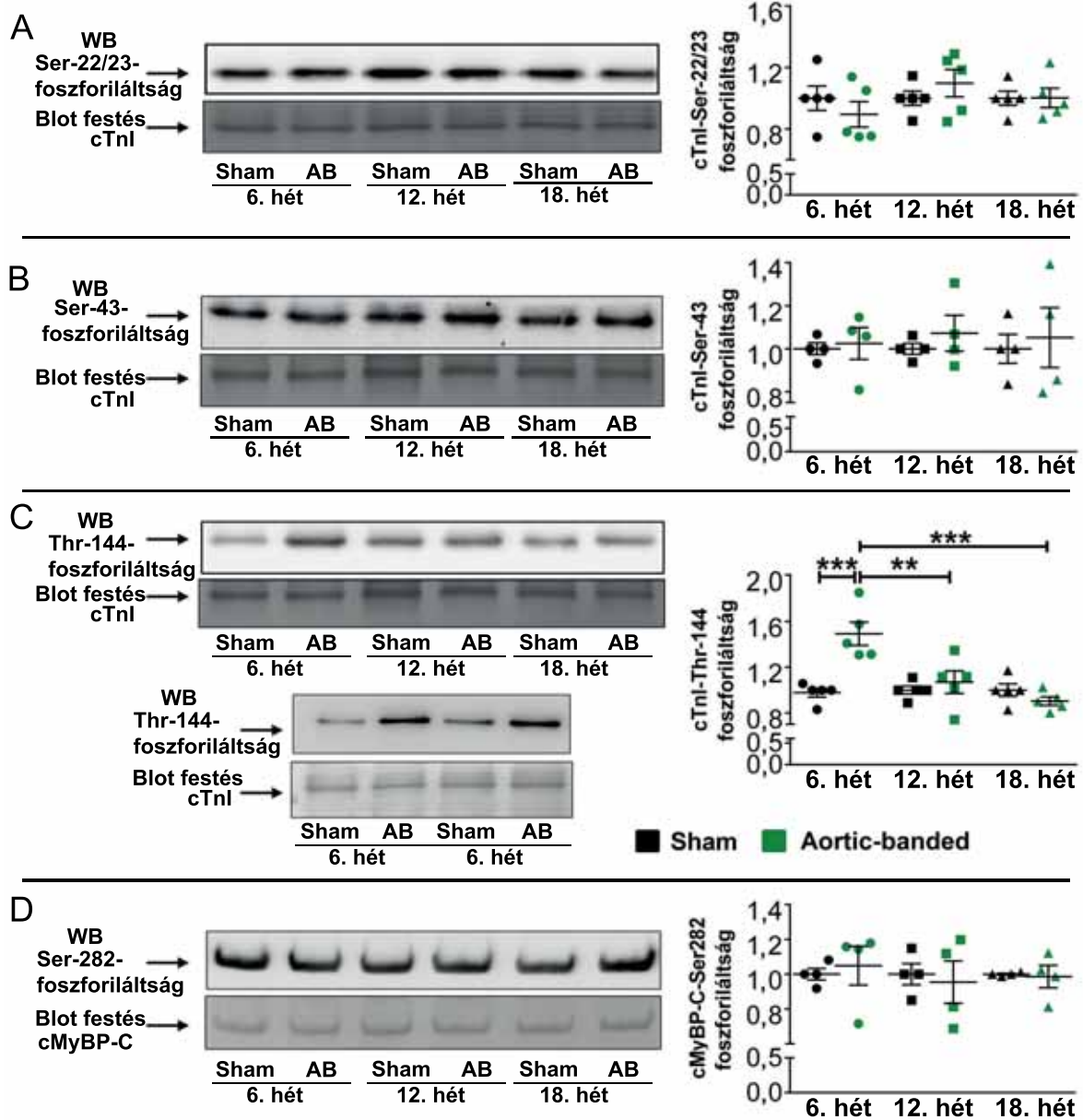
1. TÁBLÁZAT. Bal kamra és miofilamentáris funkció aortaszűkített és áloperált állatok esetében különböző időpontokban

	6. hét		12. hét		18. hét	
	Sham (n=9)	AB (n=13)	Sham (n=9)	AB (n=13)	Sham (n=10)	AB (n=13)
SBP, Hgmm	148±4	215±4 ^{***}	138±5	215±5 ^{***}	150±5	228±4 ^{***}
DBP, Hgmm	116±3	150±2 ^{***}	110±4	154±4 ^{***}	120±4	170±3 ^{***###§}
MAP, Hgmm	127±4	172±2 ^{***}	119±4	174±4 ^{***}	140±4	189±3 ^{***#§}
E_a , Hgmm/μl	0,75±0,06	1,20±0,08 [*]	0,68±0,05	1,33±0,10 ^{***}	0,84±0,05	1,54±0,16 ^{***}
HR, ütés/perc	355±7	369±9	354±5	366±7	379±7	357±5
dP/dt_{max} , Hgmm/s	8018±314	10781±283 ^{***}	8425±365	10692±374 ^{**}	9689±322	10810±518
dP/dt_{min} , Hgmm/s	-8587±221	-10663±343 ^{**}	-9277±344	-9681±249	-10073±331	-9000±431 [#]
LVEDV, μl	268±16	305±14	286±23	320±20	283±18	327±14
LVESV, μl	175±15	194±12	178±17	231±11	160±11	241±11 ^{***}
SV, μl	188±16	173±10	195±11	163±12	175±10	151±15
CO, ml/perc	66,7±6,1	62,9±3,0	69,4±4,5	59,4±4,1	66,3±4,4	53,7±5,4
SW, Hgmm*μl	17 314±1300	25 194±1873	18 404±988	22 005±2677	17 674±1296	20 405±1855
EF, %	58±3	51±2	57±2	44±2 ^{**}	55±2	41±3 ^{***#}
Tau, ms	14,2±0,4	18,4±0,9 ^{**}	12,8±0,6	19,4±0,6 ^{***}	13,0±0,3	21,7±1,2 ^{**#}
EDPVR, Hgmm/μl	0,038±0,005	0,038±0,007	0,028±0,004	0,042±0,006	0,014±0,003	0,032±0,004 ^{**}
VAC	0,50±0,08	0,45±0,06	0,54±0,06	0,76±0,08 ^{###}	0,57±0,10	0,87±0,08 ^{###}
F_{max} , kN/m ²	15,3±0,8	13,6±0,7	14,2±0,5	13,1±0,8	13,6±0,8	15,5±1,0

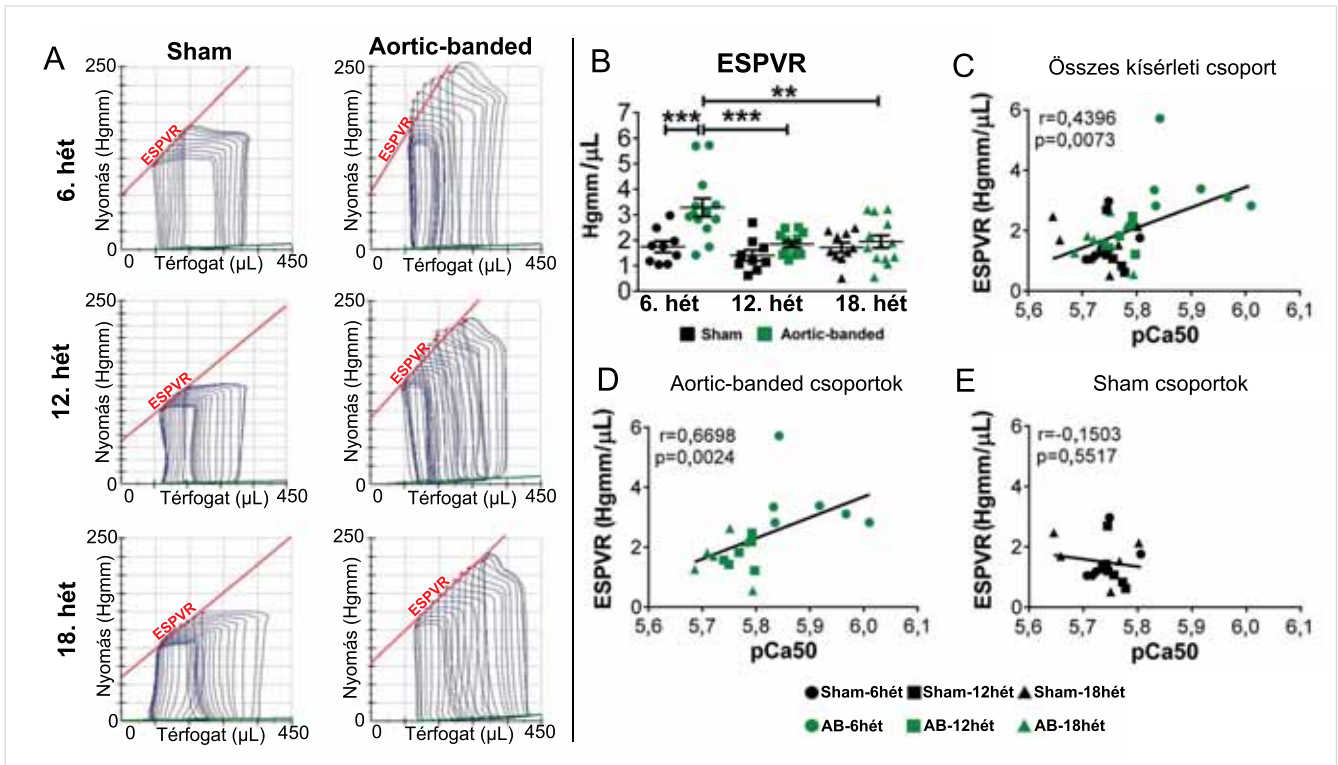
Minden adatot átlagérték±SEM formájában adtuk meg. AB: aortic banding, SBP: szisztolés vérnyomás, DBP: diasztolés vérnyomás; MAP: közepartériás nyomás; E_a : artériás elasztancia, HR: szívfrekvencia; dP/dt_{max} : maximális dP/dt ; dP/dt_{min} : minimális dP/dt ; LVEDV: bal kamrai végdiasztolés térfogat; LVESV: bal kamrai végszisztolés térfogat; SV: verőtérfogat; CO: perctérfogat; SW: verőmunka; EF: ejekciós frakció; Tau: aktív relaxációs időkonstans; EDPVR: végdiasztolés nyomás-térfogat összefüggés; VAC: ventrikulo-artériás kapcsolás; F_{max} : maximális szarkomer erő. *: $p < 0,05$ vs. korban illesztett áloperált csoport. **: $p < 0,01$ vs. korban illesztett áloperált csoport. ***: $p < 0,001$ vs. korban illesztett áloperált csoport. #: $p < 0,05$ vs. AB-6hét. ##: $p < 0,01$ vs. AB-6hét. ###: $p < 0,001$ vs. AB-6hét. §: $p < 0,05$ vs. AB-12hét. §§: $p < 0,01$ vs. AB-12hét



3. ÁBRA. Miofilamentáris Ca²⁺-érzékenység fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH-ban. A miofilamentáris rendszer Ca²⁺-érzékenysége (pCa₅₀) növekedett az AB-6hét csoportban a többi csoporthoz viszonyítva. A mérési adatok csoportonként 6 állatból (n=6) és 10-12 szívizomsejtből (n=10-12) származnak. ***: p<0,001



4. ÁBRA. A kardiális troponin-I és a miozin kötő C fehérje oldallánc-specifikus foszforilációja. Nem találtunk különbséget a vizsgált csoportok között a kardiális troponin-I (cTnI) Ser-22/23 (A) és Ser-43 oldallancának (B), valamint a miozin kötő C fehérje (cMyBP-C) Ser-282 oldallancának (D) foszforilációjában. A cTnI Thr-144 helyen történő foszforilációja szignifikánsan növekedett az AB-6hét csoportban a kontroll párjához és a többi AB csoporthoz viszonyítva (C) **: p<0,01. ***: p<0,001.



5. ÁBRA. Korreláció a végszisztolés nyomás-térfogat összefüggés meredeksége és a miofilamentáris Ca^{2+} -érzékenység között patológiás BKH-ban. A végszisztolés nyomás-térfogat összefüggés egyenesének meredeksége (ESPVR) az AB-6hét csoportban fokozott volt mind a kontrollcsoport mind az AB-12hét és AB-18hét csoportok értékeihez viszonyítva, mely a bal kamrai (BK) kontraktilitás korai növekedésére utal BK-hipertrofiában (A-B). Az ESPVR és a miofilamentumok Ca^{2+} (pCa_{50}) érzékenységben bekövetkező változások szoros korrelációt mutattak az összes vizsgálati csoport együttes elemzése esetében (C) és az AB-csoportokat külön vizsgálva is (D). Kizárólag a Sham-csoportokat vizsgálva ugyanakkor nem volt összefüggés az ESPVR és a pCa_{50} értékei között (E). **: $p < 0,01$. ***: $p < 0,001$

Ventríkulo-arteriális kapcsolás

Az AB-6hét csoportban a BK-i kontraktilitás növekedése (ESPVR-növekedés) ellensúlyozta a megnövekedett utóterhelést (emelkedett E_a), így a VAC értéke nem különbözött a megfelelő Sham-csoportéhoz képest (1. táblázat). Ezzel ellentétben az AB-12hét és AB-18hét csoportokban a BK-i kontraktilitás-növekedés regressziója, a fokozott utóterhelés változatlan fennállása mellett a VAC romlásához vezetett (1. táblázat).

Diasztolés funkció

Az aktív relaxációs időkonstans Tau jelentősen nőtt az AB-6hét, AB-12hét és AB-18hét csoportokban a megfelelő Sham-csoportokhoz képest (1. táblázat). Az ED-PVR meredeksége szintén emelkedett az AB-18hét csoportban a Sham-18 hét csoporthoz képest (1. táblázat).

Összefüggés a Ca^{2+} -érzékenység és a BK-i kontraktilitás között

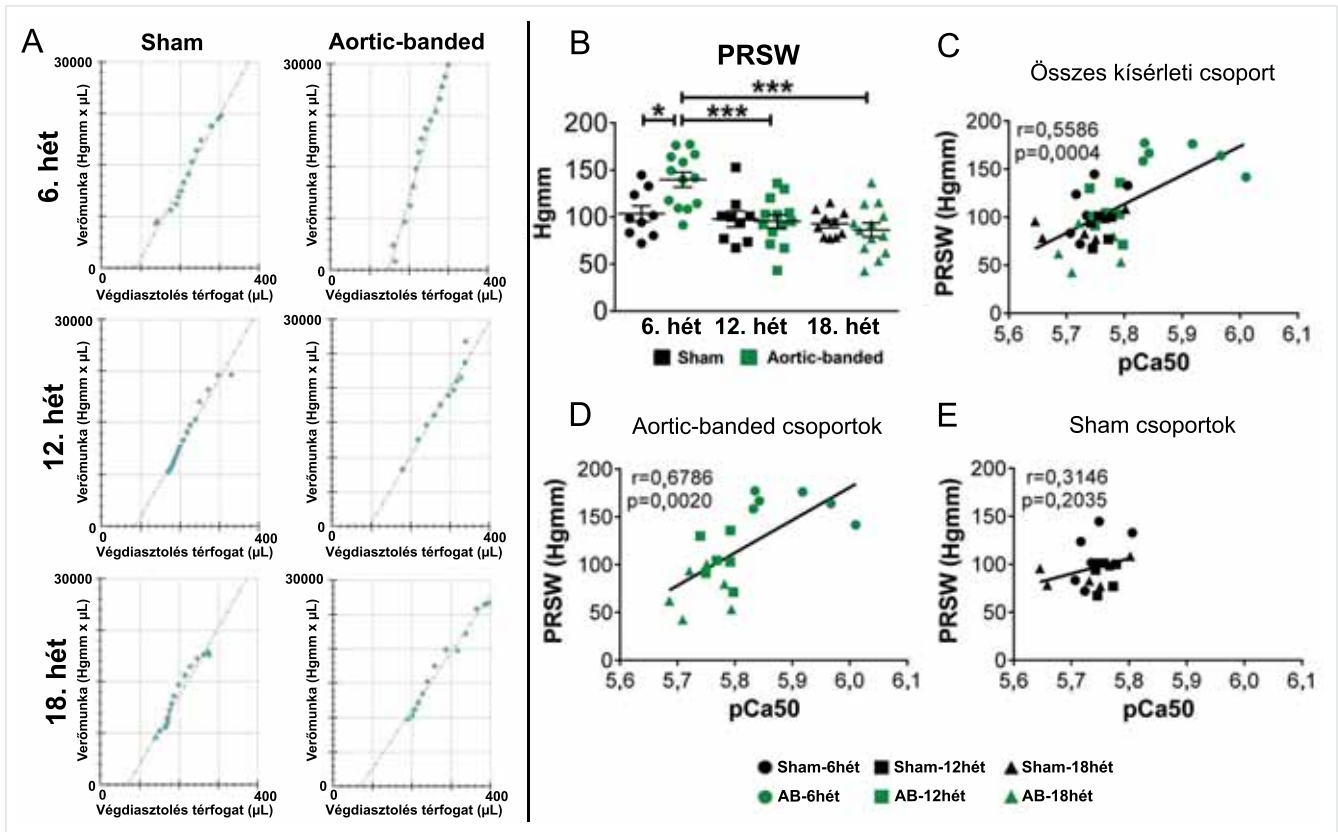
Erős korrelációt figyeltünk meg az előterheléstől független BK-i kontraktilitásparaméterek (ESPVR, PRSW és $dP/dt_{max-EDV}$) és a miofilamentáris Ca^{2+} -érzékenység (pCa_{50}) között (5–7. ábrák).

Megbeszélés

Jelen tanulmányunkban elsőként mutattuk ki, hogy a permeabilizált szívizomsejteken mért Ca^{2+} -érzékenység (pCa_{50}) és a nyomás-térfogat analízissel számított BK-i kontraktilitásparaméterek között (ESPVR, PRSW, $dP/dt_{max-EDV}$) erős korreláció áll fenn a fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH patkánymodelljében. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a miofilamentáris rendszer Ca^{2+} -érzékenységében bekövetkező változások hozzájárulhatnak a BK-i kontraktilitásváltozásokhoz a patológiás BKH kialakulása és progressziója során.

Az abdominális aortaszűkítés által előidézett BKH morfológiai és molekuláris jellemzése

Kísérleteinkben a BK fokozott utóterhelését az abdominális aorta műtéti beszűkítésével idéztük elő. Korábbi tapasztalatainknak megfelelően (5, 7, 8, 17) az aortaszűkített csoportokban jelentős mértékű BKH fejlődött ki, amit az echokardiográfiás utánkövetés (magnövekedett falvastagságok és $LV_{mass\ index}$) (1. B–D ábrák), a poszt-mortem szervtömegmérések (magnövekedett HW/TL arány) és a szövettani elemzés (emelkedett CD) egya-



6. ÁBRA. A PRSW erős korrelációt mutatott a miofilamentáris rendszer Ca^{2+} -érzékenységgel a fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH kialakulása és progressziója során. A verőmunka – végdiasztolés térfogat (EDV) összefüggés meredeksége (PRSW) emelkedett bal kamrai (BK) kontraktilitást jelezte az aortaszűkített (aortic banded [AB]) csoportban a 6. héten (A–B). A PRSW-ben és a miofilamentáris Ca^{2+} (pCa_{50}) érzékenységében bekövetkező változások között erős korrelációt figyeltünk meg az összes vizsgálati csoport együttes elemzése esetében (C) és az AB-csoportokat külön vizsgálva is (D). Kizárólag a Sham-csoportokat vizsgálva ugyanakkor nem volt összefüggés a PRSW és a pCa_{50} -értékei között (E). BKH: balkamra-hipertrofia. *: $p < 0,05$. ***: $p < 0,001$

ránt igazolt (2. A–C ábrák). A BKH patológiás jellegét a főtálas gének reaktivációja bizonyította (emelkedett β/α -MHC arány és ANP mRNS-szintek) (2. D–E ábrák) (18). Mindezen morfológiai és molekuláris változások már 6 héttel az aortaszűkítést követően jelen voltak. A későbbi időpontokban (12 és 18 hét elteltével) az aortaszűkített csoportokban a kamradilatáció és a progresszív intersziciális kollagén-felhalmozódás jelei is megfigyelhetővé váltak (1. E, 2. F ábrák), amelyek szintén összhangban állnak a korábbi megfigyelésekkel (19).

A BK funkciójában bekövetkező változások a fokozott nyomásterhelés által indukált BKH kialakulása és progressziója során

A nyomás-térfogat analízis a BK kontraktilitását megbízhatóan mérő *in vivo* hemodinamikai módszer (3). A módszer fontos sajátossága, hogy a nyomás-térfogat-hurkok részletes elemzése vena cava okklúziós manőver alkalmazása mellett lehetővé teszi az elő- és utóterheléstől független kontraktilitás-paraméterek kiszámítását. Ez különösen fontos olyan kórállapotokban, ahol az elő- és/vagy utóterhelés jelentősen változik, ezzel lehetetlenné téve a BK-funkció korrekt jellemzését a kon-

vencionális funkcionális paraméterekkel. Jelen tanulmányunkban ezért a nyomás-térfogat analízist alkalmaztuk a BK-funkció pontos hemodinamikai jellemzésére.

A fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH korai stádiuma

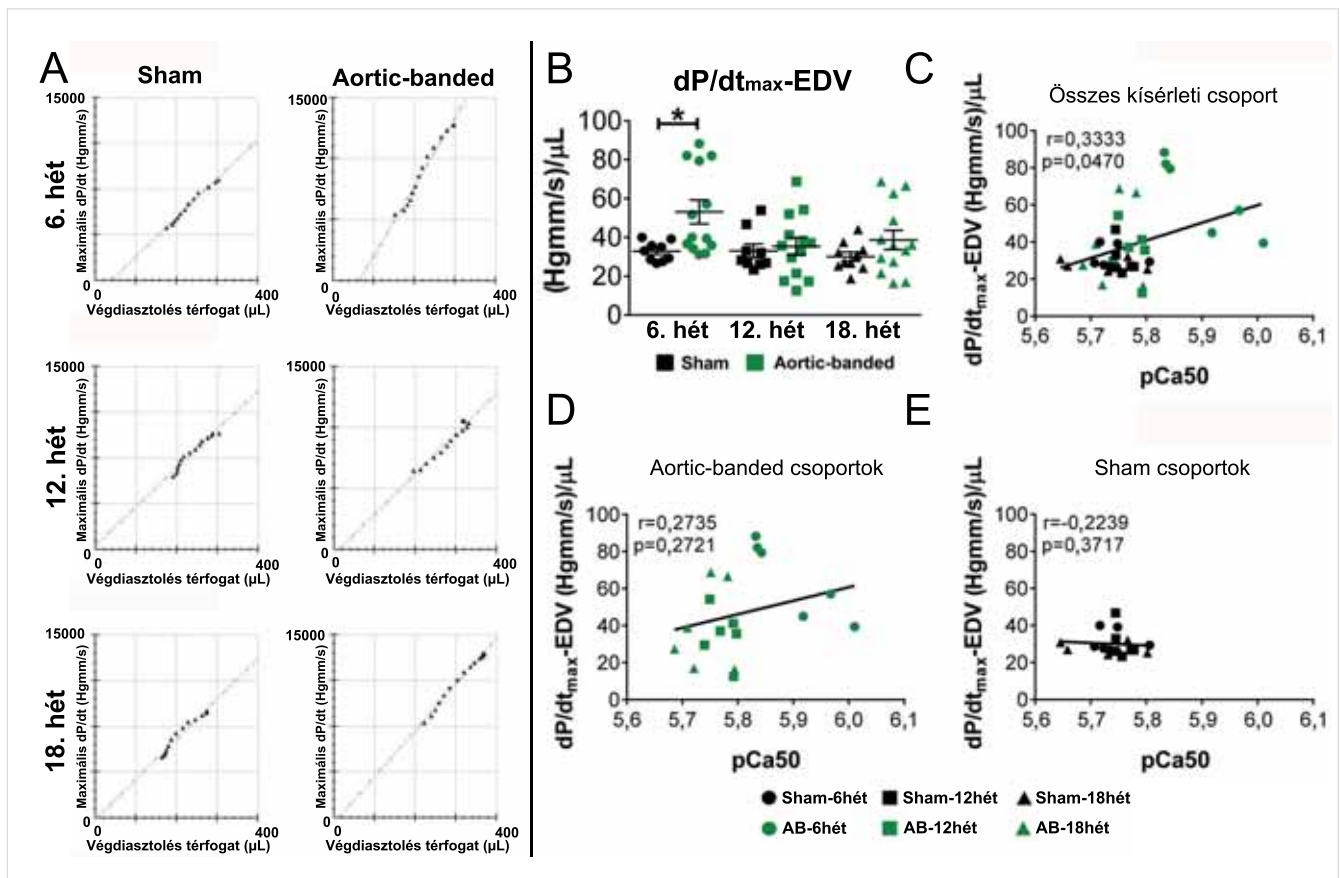
A fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH kezdeti stádiumát károsodott diasztolés funkció (főként megnyúlt aktív relaxáció) (20), és megtartott szisztolés működés jellemzi. E korai stádiumban a konvencionális, elő- és utóterheléstől függő szisztolés paraméterek nem változnak. Ugyanakkor, nyomás-térfogat analízis technikával a BK-i kontraktilitás fokozódása mutatható ki (5, 7, 17). A kontraktilitás ezen kompenzatórikus emelkedése biztosítja a BK alkalmazkodását a megnövekedett artériás utóterheléshez. Az abdominális AB-moddal kapcsolatos korábbi tapasztalataink alapján a 6. hetet választottuk a BKH korai fázisának tanulmányozásához (5, 17). Hemodinamikai méréseink igazolták, hogy az AB-csoportot ebben az időpontban valóban károsodott diasztolés funkció (megnyúlt Tau-értékek) és megtartott szisztolés funkció jellemezte. Emellett a BK-i kontraktilitás pontos jellemzése céljából három, széles

körben elfogadott, elő- és utóterheléstől független kontraktilitásparamétert (ESPVR, PRSW, dP/dt_{max} -EDV) számítottunk (3). Mind a három paraméter megnövekedett BK-i kontraktilitást igazolt az AB-csoportban (4. B, 5. B, 6. B ábrák). A változatlan VAC-arány jelezte, hogy a BK-i kontraktilitás emelkedése eredményesen kompenzálta az artériás rendszerben uralkodó fokozott utóterhelést (1. táblázat). Mérési eredményeink tehát igazolták, hogy hemodinamikai szempontból az AB-6hét csoport megfelelt a fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH korai stádiumának.

A fokozott nyomásterhelés által indukált BKH előrehaladott stádiuma

A fokozott nyomásterhelés által indukált patológiás BKH esetében a kontraktilitás növekedése csak ideiglenes alkalmazkodást tesz lehetővé, ugyanis a kezdeti kompenzatórikus kontraktilitás-fokozódás a progresszió során regrediál (6, 7). Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a szisztolés funkció dekompenzációjának időpontja krónikus nyomásterhelés által előidézett BKH állatmodelljeiben függ a kísérleti állat fajától, az aor-

taszúkítás helyétől (mellkas vagy has) és a szűkület súlyosságától (21). Az abdominális AB-moddal folytatott korábbi kísérleteink alapján him patkányok esetében a „kompenzált” BKH-ból a szisztolés diszfunkcióba való átmenet a krónikus nyomásterhelés 12. hetében várható (7). Ennek megfelelően a 12. és 18. hetet választottuk jelen tanulmányunkban az előrehaladott BKH tanulmányozására. A nyomás-térfogat analízisből számolt adatok alapján ezekben az időpontokban a BK-i kontraktilitásparaméterek jelentősen csökkentek a korai fázishoz képest (AB-6hét csoport) (4. B, 5. B, 6. B ábrák). A hiperkontraktilis állapot dekompenzációja a változatlanul fennálló fokozott artériás ellenállás (E_a) mellett a BK-i kontraktilitás és az utóterhelés egyensúlyának felbomlásához vezetett (csökkent VAC-arány) (1. táblázat). A kamrai szisztolés teljesítmény romlása ezekben az időpontokban az előterheléstől függő paraméterek (pl. EF) enyhe csökkenésében nyilvánult meg (1. táblázat). Az aortaszűkített csoportban emellett a 18. héten a diasztolés funkció mindkét aspektusának (aktív relaxáció és passzív feszülés) jelentős romlása is megfigyelhető volt (1. táblázat).



7. ÁBRA. A dP/dt_{max} -EDV összefüggés és a miofilamentáris rendszer Ca^{2+} -érzékenységének korrelációja a fokozott nyomásterhelés által indukált BKH kialakulása és progressziója során. A maximális dP/dt (dP/dt_{max}) – végdiasztolés térfogat (EDV) összefüggés meredekségének növekedése a bal kamrai (BK)-i kontraktilitás fokozódására utal az AB-6hét csoportban a megfelelő Sham csoporthoz képest (A–B). A dP/dt_{max} -EDV és a miofilamentáris Ca^{2+} (pCa_{50}) érzékenységben bekövetkező változások korrelációt mutattak az összes vizsgálati csoport együttes elemzése esetében (C). Az aortaszűkített (aortic banded [AB]) (D) és az áloperált (Sham) (E) csoportokat külön vizsgálva ugyanakkor nem volt korreláció kimutatható. *: $p < 0,05$

Miofilamentáris funkció fokozott nyomásterhelés által indukált BKH-ban és ennek összefüggése a BK-funkcióval

Tekintve, hogy a BK-i kontraktilitás, azaz a szívizomsejtek erő kifejtése a szarkomerfunkció függvénye, felmerül, hogy a BKH kialakulása és progressziója során változások mehetnek végbe a miofilamentáris funkcióban is (22). Ezt támasztja alá, hogy korábbi kísérletes munkák megnövekedett, változatlan és csökkent szarkomerfunkciót is leírtak a patológiás BKH különböző stádiumaiban (9–11, 23). Ugyanakkor ezek a tanulmányok számos limitációval rendelkeznek. A legtöbb korábbi kísérlet a miofilamentáris funkciót csak egy bizonyos időpontban vizsgálta, így nem rendelkezünk adattal a szarkomerfunkció időbeli változásait illetően. Továbbá, egyik említett tanulmány sem vizsgálta a BK-i kontraktilitás és a miofilamentáris funkció kapcsolatát. Arról tehát, hogy a miofilamentáris rendszerben leírt változások hogyan hatnak a teljes BK hemodinamikai jellemzőire, még korlátozottak az ismereteink. Ezért jelen tanulmányunkban párhuzamosan vizsgáltuk a BK kontraktilitását és a miofilamentáris funkció változását a BKH kialakulása és progressziója során.

A fokozott nyomásterhelés által indukált BKH korai stádiuma

A fentebb leírtak szerint a fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH korai fázisára (AB-6hét csoport) emelkedett BK-i kontraktilitás (ESPVR, PRSW, dP/dt_{max} -EDV) volt jellemző. Ugyanebben a kísérleti csoportban emelkedett Ca^{2+} -érzékenységet (pCa_{50}) és változatlan F_{max} -értéket mértünk permeabilizált szívizomsejteken (3. ábra és 1. táblázat). Ez az eredmény arra enged következtetni, hogy a miofilamentáris rendszer fokozott Ca^{2+} -érzékenysége lehet felelős a kontraktilitás növekedéséért a BKH korai stádiumában. Bár e két jelenség (fokozott Ca^{2+} -érzékenység szarkomerszinten és fokozott kontraktilitás a BK szintjén) között ezen összefüggést még nem tárták fel, a szarkomer Ca^{2+} -érzékenysége növekedése patológiás BKH-ban megőrzött szisztolés funkció mellett ismert az irodalomban (9, 24). Ezt kiegészítve, megvizsgáltuk a Ca^{2+} -érzékenységet leginkább meghatározó cTnI és cMyBP-C fehérjék specifikus szabályozó helyeinek foszforilációs állapotát. Méréseink a foszforilációs nagyfokú növekedését jelezték a PKC-mediált cTnI Thr-144 helyén az AB-6hét csoportban (4. C ábra). Eredményeinkkel összhangban korábbi kutatások kimutatták, hogy a cTnI pseudo-foszforilációja a Thr-143/144 (Thr-143 emberben és Thr-144 egérben/patkányban) helyeken potenciálisan növeli a miofilamentáris Ca^{2+} -érzékenységet (25, 26). Érdekes módon a Thr-143 oldallánc hiperfoszforilációja nem volt hatással a maximális szarkomererő növekedésére humán permeabilizált szívizomsejtekben (25), ami szintén összhangban áll azzal a megfigyelésünkkel, miszerint az AB-6hét csoportban az F_{max} -érték nem változott (1. táblázat). Figyelembe véve azt a tényt, hogy sem a cTnI

(Ser-22/23 és Ser-43) sem a cMyBP-C (Ser-282) egyéb vizsgált oldalláncain nem történt változás, feltételezhetjük, hogy a cTnI PKC-specifikus Thr-144 helyen történő hiperfoszforiláció állt a miofilamentáris rendszer emelkedett Ca^{2+} -érzékenysége háttérében.

A fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH előrehaladott stádiuma

A nyomás-térfogat analízisből származó eredményeink alapján a BKH előrehaladottabb stádiumaiban a kontraktilitás kompenzatorikus növekedése regrediált (5. B, 6. B, 7. B ábrák). Ezzel párhuzamosan azt találtuk, hogy a sejtszintű (miofilamentáris rendszer Ca^{2+} -érzékenysége) és a molekuláris szintű (cTnI hiperfoszforilációja a PKC-specifikus Thr-144 helyen) adaptációk a 12. és 18. hétre eltűntek az AB-csoportokban (3. és 4. C ábrák).

A BKH-t előrehaladottabb stádiumban vizsgáló korábbi tanulmányok normális vagy csökkent Ca^{2+} -érzékenységet figyeltek meg izolált és permeabilizált szívizomsejt-készítményeken. Egy spontán hipertenzív szívelégtelen patkánytörzs vizsgálata során például sem a pCa_{50} , sem az F_{max} -értékei nem különböztek a kontrollcsoport értékeitől (23). Emellett az aortaív szűkítése által okozott végstádiumú szívelégtelenség patkánymodelljében a miofilamentáris rendszer funkciójának mindkét komponensében (pCa_{50} , F_{max}) jelentős csökkenést tapasztaltak (10, 11). Fontos megjegyezni, hogy ebben a vizsgálatban az aortaív-szűkület nagyon súlyos mértékű volt és viszonylag hosszú ideig állt fenn (36 hétig), így feltételezhető, hogy a BKH és a szívelégtelenség egy sokkal előrehaladottabb állapotot ért el mind az általunk alkalmazott abdominalis AB, mind a spontán hipertenzív modellhez képest.

Az irodalmi adatokra és saját kutatásainkra alapozva feltételezzük, hogy a miofilamentáris Ca^{2+} -érzékenység növekedése (a PKC-specifikus cTnI Thr-144 helyen történő hiperfoszforiláció következtében) egy korai, ideiglenes kompenzációs mechanizmusként működik a BK fokozott nyomásterhelése esetén. A Ca^{2+} -érzékenység ezen emelkedése visszaalakul a kompenzált BKH-ból szívelégtelenségbe történő átmenetkor, majd jelentősen csökken végstádiumú szívelégtelenségben.

Következtetések

Jelen tanulmányunkban kimutattuk, hogy a fokozott nyomásterhelés által indukált BKH korai stádiumára a BK szintjén fokozott kontraktilitás, a szarkomer szintjén pedig emelkedett Ca^{2+} -érzékenység (a cTnI PKC-specifikus Thr-144 helyen történő hiperfoszforilációja miatt) jellemző. Ez a korai funkcionális alkalmazkodás kompenzálja a megnövekedett artériás utóterhelést, és ezzel fenntartja a fiziológiai ventrikulo-arteriális kapcsolást (VAC) és szisztolés funkciót. A betegség előrehaladottabb állapotában ugyanakkor a BK megnö-

vekedett kontraktilitása és a miofilamentáris rendszer Ca^{2+} -érzékenységének növekedése egyaránt regredál. A kompenzáció hiánya a VAC romlásához, ezáltal a szisztolés teljesítmény károsodásához vezet. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a miofilamentáris Ca^{2+} -érzékenységben bekövetkező változások hozzájárulhatnak a BK-i kontraktilitás dinamikus változásaihoz a fokozott nyomásterhelés által előidézett BKH kialakulása és progressziója során.

Köszönetnyilvánítás

Elismerés illeti *Patricia Kraft, Tobias Mayer, Karin Sonnenberg, Lutz Hoffmann, Gregor Viktória, Gephard Alexandra, Urbán Edina, Bíró Henriett és Samodai Erika munkáját.*

Támogatás

Jelen munkánkat a *Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal – NKFI (NVKP-16-1-2016-0017, „Nemzeti Szívprogram”); az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-18-3-I-SE-9 (R.M.) és ÚNKP-18-3-III-DE-387 (B. B.) kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjai, a Magyar Tudományos Akadémia (P. Z.; 11003), a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja (R.T.), GINOP-2.3.2-15-2016-00048 projekt (P.Z.), a Baden-Württemberg tartomány és a Ruprecht-Karls Egyetem Orvostudományi Kara (S.K-I.) támogatta.*

Irodalom

- Ruppert M, Bodi B, Korkmaz-Icoz S, Loganathan S, Jiang W, Lehmann L, et al. Myofilament Ca^{2+} sensitivity correlates with left ventricular contractility during the progression of pressure overload-induced left ventricular myocardial hypertrophy in rats. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2019; 129: 208–18. doi: 10.1016/j.jmcc.2019.02.017
- Davidson BP, Giraud GD. Left ventricular function and the systemic arterial vasculature: remembering what we have learned. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* 2012; 25: 891–4. doi: 10.1016/j.echo.2012.06.020
- Pacher P, Nagayama T, Mukhopadhyay P, Batkai S, Kass DA. Measurement of cardiac function using pressure-volume conductance catheter technique in mice and rats. *Nat Protoc* 2008; 3: 1422–34. doi: 10.1038/nprot.2008.138
- Chen J, Chemaly ER, Liang LF, LaRocca TJ, Yaniz-Galende E, Hajjar RJ. A new model of congestive heart failure in rats. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2011; 301: H994–1003. doi: 10.1152/ajpheart.00245.2011
- Nemeth BT, Matyas C, Olah A, Lux A, Hidi L, Ruppert M, et al. Cinnaciguat prevents the development of pathologic hypertrophy in a rat model of left ventricular pressure overload. *Scientific reports* 2016; 6: 37166. doi: 10.1038/srep37166
- Ku HC, Su MJ. DPP4 deficiency preserved cardiac function in abdominal aortic banding rats. *PLoS one* 2014; 9: e85634. doi: 10.1371/journal.pone.0085634
- Ruppert M, Korkmaz-Icoz S, Loganathan S, Jiang W, Lehmann LH, Olah A, et al. Pressure-volume analysis reveals characteristic sex-related differences in cardiac function in a rat model of aortic banding-induced myocardial hypertrophy. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2018. doi: 10.1152/ajpheart.00202.2018
- Ruppert M, Korkmaz-Icoz S, Li S, Nemeth BT, Hegedus P, Brlecic P, et al. Myocardial reverse remodeling after pressure unloading is associated with maintained cardiac mechanoenergetics in a rat model of left ventricular hypertrophy. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2016; 311: H592–603. doi: 10.1152/ajpheart.00085.2016
- Hamdani N, Bishu KG, von Frieling-Salewsky M, Redfield MM, Linke WA. Deranged myofilament phosphorylation and function in experimental heart failure with preserved ejection fraction. *Cardiovascular research* 2013; 97: 464–71. doi: 10.1093/cvr/cvs353
- Belin RJ, Sumandea MP, Kobayashi T, Walker LA, Rundell VL, Urboniene D, et al. Left ventricular myofilament dysfunction in rat experimental hypertrophy and congestive heart failure. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2006; 291: H2344–53. doi: 10.1152/ajpheart.00541.2006
- Belin RJ, Sumandea MP, Sievert GA, Harvey LA, Geenen DL, Solaro RJ, et al. Interventricular differences in myofilament function in experimental congestive heart failure. *Pflügers Archiv : European journal of physiology* 2011; 462: 795–809. doi: 10.1007/s00424-011-1024-4
- Sunagawa K, Maughan WL, Burkoff D, Sagawa K. Left ventricular interaction with arterial load studied in isolated canine ventricle. *The American journal of physiology* 1983; 245: H773–80. doi: 10.1152/ajpheart.1983.245.5.H773
- Yamamoto K. The time constant of left ventricular relaxation: extraction from load dependence and overestimation of functional abnormality. *Circulation Heart failure* 2010; 3: 178–80. doi: 10.1161/CIRC-HEARTFAILURE.110.941773
- Kass DA, Beyar R, Lankford E, Heard M, Maughan WL, Sagawa K. Influence of contractile state on curvilinearity of in situ end-systolic pressure-volume relations. *Circulation* 1989; 79: 167–78.
- Kass DA, Kelly RP. Ventriculo-arterial coupling: concepts, assumptions, and applications. *Annals of biomedical engineering* 1992; 20: 41–62.
- Ruppert M, Korkmaz-Icoz S, Li S, Merkely B, Karck M, Radovits T, et al. Reverse electrical remodeling following pressure unloading in a rat model of hypertension-induced left ventricular myocardial hypertrophy. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension* 2017; 40: 637–45. doi: 10.1038/hr.2017.1
- Olah A, Nemeth BT, Matyas C, Hidi L, Lux A, Ruppert M, et al. Physiological and pathological left ventricular hypertrophy of comparable degree is associated with characteristic differences of in vivo hemodynamics. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2016; 310: H587–97. doi: 10.1152/ajpheart.00588.2015
- McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 2007; 34: 255–62. doi: 10.1111/j.1440-1681.2007.04585.x
- Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Aurigemma GP, Douglas PS. Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure-overload hypertrophy. Chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. *Circulation* 1995; 91: 2642–54.
- Douglas PS, Berko B, Lesh M, Reichek N. Alterations in diastolic function in response to progressive left ventricular hypertrophy. *Journal of the American College of Cardiology* 1989; 13: 461–7.
- Gomes AC, Falcao-Pires I, Pires AL, Bras-Silva C, Leite-Moreira AF. Rodent models of heart failure: an updated review. *Heart failure reviews* 2013; 18: 219–49. doi: 10.1007/s10741-012-9305-3
- Hamdani N, Kooij V, van Dijk S, Merkus D, Paulus WJ, Remedios CD, et al. Sarcoplasmic reticulum dysfunction in heart failure. *Cardiovascular research* 2008; 77: 649–58. doi: 10.1093/cvr/cvm079
- Perreault CL, Bing OH, Brooks WW, Ransil BJ, Morgan JP. Differential effects of cardiac hypertrophy and failure on right versus left ventricular calcium activation. *Circulation research* 1990; 67: 707–12.
- Frayssé B, Weinberger F, Bardswell SC, Cuello F, Vignier N, Gertz B, et al. Increased myofilament Ca^{2+} sensitivity and diastolic dysfunction as early consequences of Mybpc3 mutation in heterozygous knock-in mice. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2012; 52: 1299–307. doi: 10.1016/j.jmcc.2012.03.009
- Wijker PJ, Sequeira V, Foster DB, Li Y, Dos Remedios CG, Murphy AM, et al. Length-dependent activation is modulated by cardiac troponin I bisphosphorylation at Ser23 and Ser24 but not by Thr143 phosphorylation. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2014; 306: H1171–81. doi: 10.1152/ajpheart.00580.2013
- Wang H, Grant JE, Doede CM, Sadayappan S, Robbins J, Walker JW. PKC-beta1 sensitizes cardiac myofilaments to Ca^{2+} by phosphorylating troponin I on threonine-144. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2006; 41: 823–33. doi: 10.1016/j.jmcc.2006.08.016