

# Fokozott aritmiaérzékenységgel társuló kamrai szívizom-remodelling vizsgálata sportszív nagyállatmodellben

Pintér Jenő Antal<sup>1</sup>, Polyák Alexandra<sup>2</sup>, Varró András<sup>3,4</sup>,  
Farkas S Attila<sup>1</sup>, Baczkó István<sup>3</sup>, Topal Leila<sup>3</sup>



A társszerző  
video-összefoglalója

<sup>1</sup>Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Kardiológia, Szeged

<sup>2</sup>Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Belgyógyászati Klinika, Szeged

<sup>3</sup>Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szeged

<sup>4</sup>HUN-REN-SZTE Keringéscsökkentő farmakológiai kutatócsoport, Szeged

Levelezési cím:

Prof. dr. Baczkó István, 6720 Szeged, Dóm tér 12. E-mail: baczko.istvan@med.u-szeged.hu

A közelmúltban több tanulmány is rámutatott arra, hogy az intenzív sporttevékenység szívritmuszavarok kialakulására hajlamosíthat és akár hirtelen szívhalálhoz is vezethet, azonban a háttérben húzódó elektrofiziológiai mechanizmusok kevésbé ismertek. Munkánk során a tartós állóképességi edzés indukálta szívizom-átépülést (ún. „remodelling”) és aritmiaérzékenységet vizsgáltuk kutya sportszív-modellben. Beagle-kutyákat véletlenszerűen „kontroll” és „edzett” csoportokba soroltunk (n=12/csoport), ez utóbbi egy 4 hónapos intenzív edzésprogramban vett részt. A szívizom-remodellációt és a ritmuszavar-érzékenységet számos *in vivo* és *in vitro* technikával vizsgáltuk (elektrokardiográfia, echokardiográfia, közvetlen kamrai „burst” ingerlés, patch-clamp, immunocitokémia, szövettani vizsgálatok). Az edzésprogram hatására nőtt a szeptális falvastagság (8,1±0,2 mm vs. 7,4±0,2 mm; p<0,05), a bal kamrai végdisztolés átmérő (32,0±0,7 mm vs. 30,4±0,7 mm; p<0,05) és a bal kamrai tömegindex (125,8±4,3 g/m<sup>2</sup> vs. 97,7±6,4 g/m<sup>2</sup>; p<0,05). Megnyúlt kamrai repolarizációt figyeltünk meg *in vivo* és *in vitro* körülmények között (QT<sub>c</sub>: 237,1±3,4 ms vs. 213,6±2,8 ms; APD90: 472,8±29,6 ms vs. 370,1±32,7 ms; p<0,05), amelyek a repolarizáció emelkedett rövid távú variabilitásával társultak. Az edzett állatok szívből izolált bal kamrai szívizomsejtek tranziens kifelé irányuló K<sup>+</sup>-áramának amplitúdója csökkent (6,4±0,5 pA/pF vs. 8,8±0,9 pA/pF, 50 mV; p<0,05), mindemellett a bal kamrai fibrózis mértéke, illetve a HCN4-fehérje expressziója is emelkedett. Fokozott ektópiás aktivitást és aritmiaérzékenységet figyeltünk meg az edzett állatokban. Modellünkben egyértelmű strukturális és elektrofiziológiai szívizom-átalakulás jelentkezett. Szívmorfológiai megfigyeléseink összhangban állnak a humán állóképességi élsportolóknál megfigyelttel. Tanulmányunkban a repolarizáció diszperziójának fokozódása, a fibrózis emelkedett mértéke és a HCN4-túlexpresszió a modell aritmiák iránti fokozott érzékenységet jelzik.

**Kulcsszavak:** sportszív, állóképességi edzés, kardiális remodelling, repolarizációs rezerv, fibrózis, kamrai aritmia

## Ventricular myocardial remodeling associated with increased arrhythmia sensitivity in a large animal athlete's heart model

Several recent studies have highlighted that high-intensity training may predispose to cardiac arrhythmias and, in severe cases, sudden cardiac death, but the underlying electrophysiological mechanisms are poorly understood. Our study investigated cardiac remodeling and susceptibility to ventricular arrhythmias induced by sustained endurance training in a canine model of elite exercise. Beagle dogs were randomized to a “control” or a “trained” group (n=12/group). The trained group participated in a 4-month intensive training program. Cardiac remodeling and arrhythmia susceptibility were investigated using various *in vivo* and *in vitro* methods (electrocardiography, echocardiography, ventricular burst stimulation, patch-clamp, immunocytochemistry and histopathological studies). The training program led to increased septal wall thickness (8.13±0.2 mm vs. 7.4±0.2 mm; p<0.05), left ventricular end-diastolic diameter (32.0±0.7 mm vs. 30.4±0.7 mm; p<0.05), and left ventricular mass index (125.8±4.3 g/m<sup>2</sup> vs. 97.7±6.4 g/m<sup>2</sup>; p<0.05). In trained animals, prolonged ventricular repolarization was detected under *in vivo* and *in vitro* conditions (QT<sub>c</sub>: 237.1±3.4 ms vs. 213.6±2.8 ms, n=12; APD90: 472.8±29.6 ms vs. 370.1±32.7 ms; p<0.05), accompanied with increased short-term variability of repolarization. The amplitude of the transient outward K<sup>+</sup>-current in left ventricular myocytes isolated from the hearts of the trained animals was reduced (6.4±0.5 pA/pF vs. 8.8±0.9 pA/pF, at 50 mV; p<0.05), additionally, the degree of left ventricular fibrosis and HCN4 protein expression were increased. Additionally, there was a notable increase in ectopic activity in trained dogs. The exercise program resulted in clear cardiac structural and electrophysiological alterations. Our study suggests that increased repolarization dispersion, elevated fibrosis, and overexpression of HCN4 indicate increased susceptibility of the model to arrhythmias.

**Keywords:** athlete's heart, endurance training, cardiac remodeling, repolarization reserve, fibrosis, ventricular arrhythmia

A kézirat 2023. 09. 14-én érkezett a szerkesztőségbe, 2023. 10. 03-án került elfogadásra.

## Bevezetés

Bár a rendszeres testmozgás jótékony hatásai vitathatatlanok (1, 2), meggyőző bizonyítékok támasztják alá, hogy a hosszú távon folytatott intenzív testedzés növelheti a szívritmuszavarok, beleértve a pitvarfibrillációt, a kamrai aritmiákat, sőt a hirtelen szívhalál kockázatát is (3, 4). Ezeknek a gyakran megdöbbentő eseményeknek a megértéséhez elengedhetetlen az edzésterhelés intenzitása és a kóros kardiovaszkuláris elváltozások között fennálló U-alakú kapcsolat pontos ismerete (5): bár mind a mérsékelt, mind a nagy intenzitású testmozgás kedvező hatásokkal is bír, egy bizonyos szinten túl potenciálisan aritmogén kockázati tényező lehet erre érzékeny egyéneknél vagy olyan helyzetekben, amikor a szívizom repolarizációs kapacitása, tartaléka gyengült. Szerencsére a sporttal összefüggő, igazolt miokardiális patológia nélküli szívhalál ritka, azonban előfordulását gyakran alábecsülik. A boncolási leletek nem minden esetben szolgáltatnak kielégítő okot, és a hirtelen szívhalált gyakran iszkémiás eredetű kamrafibrillációnak tulajdonítják. Következésképpen a krónikus, intenzív sportolással kapcsolatos emelkedett aritmia-kockázat okai és kialakulásának mechanizmusai más-más gyökereznek.

Az edzés indukálta elektrofiziológiai remodelláció vizsgálatára irányuló experimentális munkákat többnyire olyan állatmodelleken végezték (pl. patkány és egér), amelyeknek elektrofiziológiai sajátosságai jelentősen eltérnek a humán szívtől. Tudomásunk szerint – eltekintve kutatócsoportunk egy korábbi (6), illetve egy nemrégiben publikált, versenylovak atrioventrikuláris diszfunkciójáról szóló tanulmánytól (7) – ebben a témában kifejezett humán relevanciával rendelkező nagyállatmodellben ezidáig nem végeztek vizsgálatokat. Ezzel összhangban vizsgálataink célja a 4 hónapos intenzív terhelés kiváltotta balkamra-remodelláció és a következetesen fellépő aritmiafogékonyság vizsgálata volt a humán élettani és kórélettani viszonyokat a kisállatmodelleknél jobban tükröző, kifejezett transzlációs értékkel bíró kutyamodellben.

## Módszerek

### Kísérleti elrendezés, edzésprogram

Valamennyi állatkísérleti eljárás a Szegedi Tudományegyetem Etikai Bizottságának (engedélyszámok: I-74-15-2017, I-74-24-2017) és a Földművelésügyi Minisztérium Állategészségügyi Osztályának (hatósági engedély számok: XIII/3330/2017, XIII/3331/2017) jóváhagyásával zajlott, a 2010/63/EU irányelveinek megfelelően.

Felnőtt hím és nőstény Beagle-kutyákat véletlenszerűen „kontroll” („CONT”, n=12) és „edzett” („TRN”, n=12) csoportokba osztottuk. Az „TRN”-csoportba tartozó kutyák 16 héten keresztül heti 5 napon át erre a célra kialakított futópádon edzettek. Naponta 2×90 per-

cet futottak 12–18 km/óra sebességgel (fokozatosan emelkedő terhelés), és napi 2×50 perces intervallumú futást végeztek 4 és 22 km/óra rögzített sebességgel. A „CONT”-csoportba tartozó kutyák nem vettek részt az edzésprogramban. Az edzésprogram részletes leírása korábbi közleményünkben olvasható (8).

### Elektrokardiográfia, echokardiográfia

Éber kutyák prekordiális EKG-felvételeit a 0. és a 16. héten rögzítettük. Az átlag RR, PQ, QRS, QT és  $T_{peak}-T_{end}$  ( $TpTe$ ) intervallumokat 40 egymást követő sinuseredetű ütés alapján számítottuk a regisztrátum 10. percében. A frekvencia-korrigált QT ( $QT_c$ )-intervallum meghatározásához lineáris regressziós módszert alkalmaztunk (9). Az RR- és QT-intervallumok „beat-to-beat” variabilitási és instabilitási paramétereit 40 egymást követő sinusütésből származtattuk a korábbiakban leírtak szerint (6, 8).

Az edzésprogram kezdete előtt, majd annak végén M-módú 2D és Doppler transthoracalis echokardiográfias vizsgálatokat végeztünk. Mértük a kamrafal-vastagság paramétereit, végszisztolés és végdiasztolés átmérőket. A vizsgált paramétereit testtömegre és testfelszínre normalizáltuk. Az elektrofiziológiai és echokardiográfias protokoll részletes leírása korábbi publikációinkban olvasható (8).

### Aritmiaprovokáció nyitott mellkasú állatokon

Premedikációt (0,5 µg/kg iv. szufentanil) és anesztézia indukciót (150 mg/kg iv. pentobarbitál) követően 20 mechanikusan lélegeztetett állaton („CONT” n=10, „TRN” n=10) bal oldali laterális thoracotomiát végeztünk. A vitális paramétereit (vérnyomás, oxigénszaturáció, EKG) folyamatosan monitoroztuk. Epikardiálisan a bal kamra csúcsi területére egy pacemakerhez csatlakoztatott pacemaker-elektrodát helyeztünk. Az altatásból eredő esetleges bradycardia megelőzésére a pacemaker VVI-üzemmódban volt. Az aritmiaprovokáció a regisztrált küszöbpotenciál háromszorosával történt. A kamrai ritmuszavarra való hajlamot és az aritmiaincidenziát 1, 3, 6 és 9 másodperces időtartamú, 800/perc frekvenciájú kamrai „burst” ingerléssel vizsgáltuk.

Az aritmiaprovokációt követően a túlaltatott állatok szívét jobb oldali laterális thoracotomia során kimetsztettük. A szíveket 4 °C-os fiziológiás oldatban átöblítettük. A pitvarok eltávolítását követően a kamrák tömegét megmértük. A bal kamrai és szeptális fal vastagságát digitális mérő kalapáccsal mértük. A kamrafalból vett szövetmintákat szövettani vizsgálatoknak vetettük alá. A metodika további, részletes leírása *Polyák és munkatársai* közleményében olvasható (8).

### Akcióspotenciál-mérés konvencionális mikroelektrod-technikával

Az alkalmazott technikákat korábban részletesen ismertettük (10). A jobb kamrai preparátumok akciós po-

tenciál paramétereit 1000 ms ciklushosszú négyszög-impulzusok alkalmazása mellett regisztráltuk.

### Transzmembrán ionáramok mérése patch-clamp technikával

A kutya bal kamrai szívizomsejtek izolálását Jost és munkatársai által részletezett technikával végeztük (11). Kísérleteinkhez 1,5-2,5 M $\Omega$  ellenállású patch-clamp pipettát az adott ionárammérésnek megfelelő pipettaoldattal töltöttük fel. Vizsgálatainkat a patch-clamp technika egészséjtes konfigurációjában végeztük. A mérések során a különböző vizsgált áramokat (tranzienst kifelé irányuló K<sup>+</sup>-áram – I<sub>to</sub>), befelé egyenirányító K<sup>+</sup>-áram (I<sub>K1</sub>), késői egyenirányító K<sup>+</sup>-áram gyors (I<sub>Kr</sub>) és lassú komponense (I<sub>Ks</sub>), L-típusú Ca<sup>2+</sup>-áram (I<sub>Cal</sub>), késői Na<sup>+</sup>-áram (I<sub>NaL</sub>), Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> cseremechanizmus áram (INCX) szelektív gátlószereket tartalmazó Tyrode-oldat szuperfúziója mellett regisztráltuk. Az egyes áramok pontos mérési körülményeit korábbi munkáinkban részletesen ismertettük (11–14).

### Akcióspotenciál-mérések izolált bal kamrai szívizomsejteken

A bal kamrai szívizomsejtek membránpotenciál-értékét current clamp módban rögzítettük. Az akciós potenciálok kiváltásához a szívizomsejteket 1 Hz-es frekvenciájú négyszögimpulzussal ingereltük. Extracelluláris oldatként gátlószereket nem tartalmazó normál Tyrode-oldatot alkalmaztunk. A membrán perforációjának kifejlődéséhez a pipettaoldathoz 50  $\mu$ M  $\beta$ -escint adtunk. A pontos mérési körülményeket korábbi munkáinkban részleteztük (8, 15). Legalább 60 ütés regisztrálását követően az akciós potenciál időtartamát 90%-os repolarizációnál (APD90) mértük. A rövid távú APD-variabilitást (STV-APD) 30 egymást követő akciós potenciál elemzésével számoltuk ki.

### Egyéb nem elektrofiziológiai mérési technikák: Western-blot analízis és immuncitokémiai vizsgálatok

Az I<sub>to</sub>-csatorna fehérjealegységeinek (KCHIP2 és Kv4.3) expressziós szintjét Western-blot technikával határoztuk meg a bal kamrai szabad fal membránfrakciójának izolálását követően (8, 16). A bal kamrai myocytákban kifejeződött különböző ioncsatorna-alegységek (KCHIP2, Kv4.3, HCN1, HCN2 és HCN4) fehérjeexpressziós szintjét enzimatikusan izolált bal kamrai szívizomsejtek acetonos fixálást követően immunocitokémiai módszerrel vizsgáltuk (8, 17).

### Statisztika

Az adatok statisztikai értékelését az SPSS Statistics 25 (IBM, Armonk, New York, USA) program segítségével végeztük. A folytonos változókat átlag  $\pm$  SEM formában fejeztük ki. Az „n” szám az állatok számát jelöli, kivéve az *in vitro* mérések esetén, ahol a preparátumok/sejtek

számát és azon állatok számát jelöli, ahonnan ezek a sejtek származnak. A folytonos adatok normáloszlásának Kolmogorov–Smirnov-teszttel történő megerősítése után páros, illetve kétmintás t-próbával hasonlítottuk össze az átlagokat. Nem normáloszlású adatok esetén Mann–Whitney U-tesztet alkalmaztunk. Kategorikus változók kapcsolatának vizsgálatokor  $\chi^2$ -próbát alkalmaztunk. Szignifikánsnak tekintettük a  $p < 0,05$  értéket.

## Eredmények

### A hosszú távú állóképességi edzés következtében fellépő hipertrófia és fibrózis

Az echokardiográfiai paraméterek és boncolási eredmények az 1. táblázatban olvashatók. A bal pitvar megnagyobbodásának jeleként a 16 hetes állóképességi edzés következtében megnövekedett a bal pitvari térfogat (LAV). Mindemellett a „TRN”-állatokban jelentős bal kamrai hipertrófia alakult ki a „CONT”-csoporthoz képest, ami megvastagodott interventrikuláris szeptumfalban (IVS), bal kamrai hátsó falban (LWPW), valamint nagyobb bal kamrai végdiasztolés átmérőben (LVEDD) és megnövekedett bal kamrai tömegben (LVM és LVMi) jelentkezett. A bal kamrai végdiasztolés átmérő (EDV) szintén emelkedett értéket mutatott a „TRN”-csoportban. A mért echokardiográfias különbségek a csoportok között továbbra is fennmaradtak a testsúlyra (IVS/BW; LVPW/BW) vagy a testfelületre (LAVi; LVEDD/BSA; LVEDD/BSA; EDV/BSA) normalizálást követően. Ugyanakkor nem mutatkozott különbség a vizsgált csoportok között a végszisztolés térfogat (ESV), annak testfelülettel korrigált értéke (ESV/BSA), az ejekciós frakció (EF), valamint a relatív falvastagság (RWT) között.

Az *in vivo* mért echokardiográfias paraméterek mellett a boncolási vizsgálatok is hipertrófiát jeleztek a „TRN”-csoportban: megnövekedett a bal kamrai tömegindex (LVMi), illetve megvastagodott az interventrikuláris szeptumfal (IVS/BW) és a bal kamrai hátsó fal (LVPW és LVPW/BW) is.

A fent részletezett strukturális változások mellett, a szemikvantitatív patofiziológiai vizsgálatok alapján észlelhető fibrotikus elváltozás alakult ki a „TRN”-állatok bal kamrai régiójában (1. ábra).

### A tartós állóképességi edzés hatása a szívfrekvenciára

A tartós állóképességi edzés eredményeként jelentős nyugalmi bradycardia és megnövekedett szívfrekvencia-variabilitás alakult ki a „TRN”-csoportban (2. A és 2. B ábrák). Az autonóm idegrendszerrel független intrinszc szívfrekvenciát a „CONT”- és „TRN”-kutyákból származó spontán működő izolált jobb pitvari szövetpreparátumokon vizsgáltuk. A spontán intrinszc frekvencia szignifikánsan lassabb volt a „TRN”-kutyák szövetpreparátumaiban (2. C ábra).

**1. TÁBLÁZAT.** Echokardiográfiás paraméterek az edzésprogram kezdete előtt és annak végeztével, illetve szív boncolási mérések

	Edzésprogram előtt (0. hét)		Edzésprogram után (16. hét)	
	„CONT”-csoport	„TRN”-csoport	„CONT”-csoport	„TRN”-csoport
IVS, mm	7,1±0,3	6,8±0,2	7,4±0,2	8,13±0,2 <sup>#</sup>
IVS/BW, mm/kg	0,6±0,03	0,5±0,03	0,6±0,03	0,74±0,03 <sup>#</sup>
LVPW, mm	7,1±0,2	6,95±0,2	7,4±0,3	7,64±0,3
LVPW/BW, mm/kg	0,6±0,03	0,6±0,03	0,6±0,03	0,70±0,04 <sup>#</sup>
LVESD, mm	14,2±0,3	17,6±0,7	18,7±0,5	18,4±0,1
LVESD/BSA, mm/m <sup>2</sup>	25,8±1,1	32±1,03	34,2±1,5	36,5±2,1 <sup>#</sup>
LVEDD, mm	28,7±0,7	29±0,96	30,4±0,7	32,0±0,7 <sup>#</sup>
LVEDD/BSA, mm/m <sup>2</sup>	51,7±1,4	52,7±1	55,3±1,9	63,5±1,3 <sup>#</sup>
LVM, g	46,7±3,4	45,1±2,1	54,1±3,9	63,6±2,8 <sup>#</sup>
LVMi, g/m <sup>2</sup>	83,6±5,6	81,2±2,8	97,7±6,4	125,8 ±4,3 <sup>#</sup>
EDV, ml	32,3±20	32,6±2,5	37,9±2,2	40,6±1,7 <sup>#</sup>
EDV/BSA, ml/m <sup>2</sup>	57,5±2,5	58,4±2,9	68,4±3,4	80,3±2,3 <sup>#</sup>
ESV, ml	6,1±0,6	9,5±1,03	11,4±0,8	10,2±1,3
ESV/BSA, ml/m <sup>2</sup>	10,9±0,9	17±1,5	20,7±1,3	20,1±2,5
EF, %	80,4±1,7	70,9±2,3	69,7±1,3	75,1±2,7
LAV, ml	9±0,9	8,9±0,6	10,4±0,9	11,4±1,4 <sup>#</sup>
LAVi, ml/m <sup>2</sup>	16±1,4	16±0,8	18,7±1,3	22,4±2,3 <sup>#</sup>
RWT	0,50±0,02	0,49±0,02	0,49±0,02	0,48±0,02

**Edzésprogramot követő boncolási adatok**

	IVS (mm)	IVS/BW (mm/kg)	LVPW (mm)	LVPW/BW (mm/kg)	LVM (g)	LVMi (g/m <sup>2</sup> )
„CONT”-csoport	3,62±0,6	0,028±0,04	2,54±0,4	0,02±0,03	79,3±4,4	144,1±4,1
„TRN”-csoport	4,25±0,3	<b>0,039±0,03*</b>	<b>3,42±0,3*</b>	<b>0,031±0,02*</b>	83,3±4,8	<b>167,2±5,7*</b>

IVS: interventrikuláris szeptum; BW: testtömeg; LVPW: bal kamra hátsó fal; LVESD: bal kamra végszisztolés átmérő; BSA: testfelszín; LVEDD: bal kamra végszisztolés átmérő; LVM: bal kamrai tömeg; LVMi: bal kamrai tömegindex (LVM/BSA); EDV: végdiasztolés térfogat; ESV: végszisztolés térfogat; EF: ejekciós frakció; LAV: bal pitvari térfogat; LAVi: bal pitvari térfogatindex (LAV/BSA); RWT: relatív falvastagság (LVPW<sup>2</sup>/LVEDD); Minden paramétert átlag ± SEM formában fejeztünk ki. p<0,05 „CONT”-csoport vs. „TRN”-csoport a 16. héten, \*p<0,05 „TRN”-csoport a 16. héten vs. „TRN”-csoport a 0. héten.

**A tartós állóképességi edzés következtében fellépő EKG-eltérések és fokozott aritmiakészség**

A 16 hetes állóképességi edzés meghosszabbodott RR, PQ, QT és szívfrekvencia korrigált QT (QT<sub>c</sub>)-intervallumokhoz, továbbá megnövekedett TpTe-intervallumhoz és szélesebb QRS-intervallumhoz vezetett (3. ábra). A „TRN”-állatokban a meghosszabbodott QT-intervallum szignifikánsan megemelkedett rövid távú QT-intervallum variabilitási paraméterrel (STV-QT) társult (2,6±0,2 ms vs. 3,6±0,4 ms, „CONT” vs. „TRN”, p<0,05).

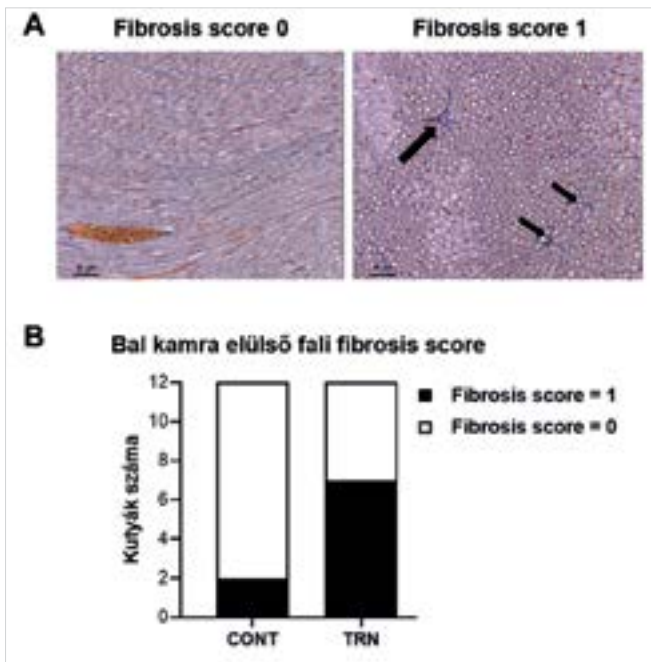
A nyugalmi EKG-felvételek során a „TRN”-állatokban szignifikánsan több nem sinuseredetű kamrai ütés fordult elő, amelyek többsége kamrai „escape” ütésként jelentkezett. Összetettebb aritmiatípust egyik csoportban sem regisztráltunk. A nyitott mellkasú, altatott kutyákban végzett elektromos „burst” stimuláció következtében 10-ből 6 „TRN”-kutyában váltottunk ki kamrafibrillációt, míg a „CONT”-csoport esetében ez csupán 10-ből 3 kutyában fordult elő (4. ábra).

**A hosszú távú állóképességi edzés hatása a szív akciós potenciál időtartamaira**

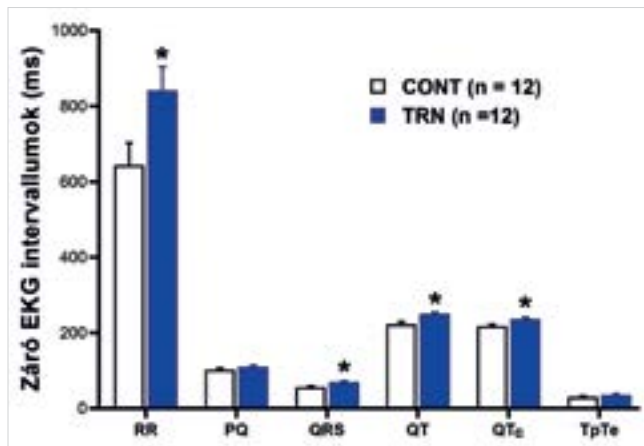
Az akciós potenciál időtartamát (APD) a szív különböző régióiban is megvizsgáltuk. A jobb kamrai papilláris izom akciós potenciáljának időtartama 90%-os repolarizációértéknél (APD90) mérve nem tért el szignifikánsan a csoportok között (5. A ábra). Azonban a „TRN”-kutyákból izolált bal kamrai szívizomsejtek APD90-értéke szignifikánsan hosszabb volt (5. B ábra), ami jelentősen emelkedett rövid távú variabilitás paraméterrel (STV-APD90) társult a „CONT”-csoporthoz képest (5. C és 5. F ábrák).

**A tartós állóképességi edzés hatása a bal kamrai ionáramokra izolált szívizomsejteken**

Az akciós potenciál első repolarizációs fázisában jelentős szereppel bíró tranzienst kifelé irányuló káliumáram (I<sub>to</sub>) amplitúdója szignifikánsan csökkent a „TRN”-csoportban (5. G ábra). Azonban a többi mért, a repolarizációs folyamatban résztvevő áram amplitúdója nem mutatott eltérést a csoportok között.



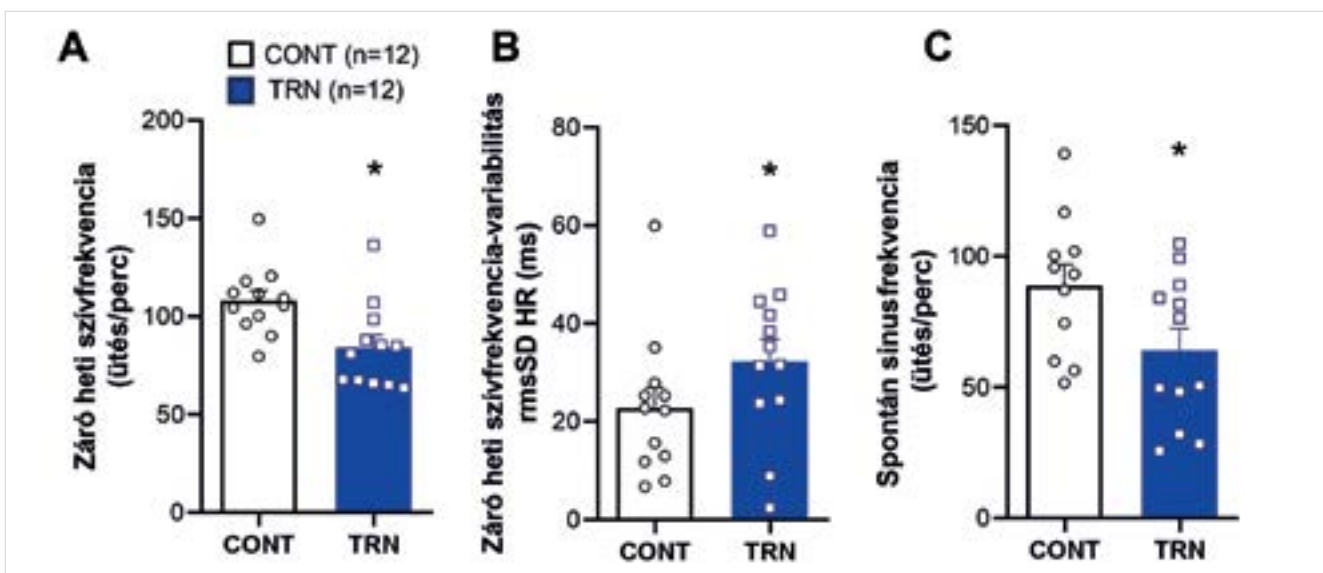
**1. ÁBRA.** Fokozott fibrózis jelenléte az edzett kutyák bal kamrájában. **1. A ÁBRA.** A bal kamrai elülső falból vett minták Crossmon trikróm festéssel láthatóvá tett reprezentatív szövettani képei, amelyek a „CONT”-kutyákból (fibrózis score 0 = negatív eredmény), és a „TRN”-kutyákból (fibrózis score 1 = enyhe) készültek. A fekete nyilak a fibrózis jelenlétét jelzik. Az **1. B ÁBRÁN** az oszlopdiagram a hegesedés mértékét fejezi ki fibrózisponozással a „CONT”- és „TRN”-kutyák bal kamrájának elülső falában. „CONT”: kontrollcsoport; „TRN”: edzett csoport. \* $p < 0,05$  „TRN”- vs. „CONT”-csoport a 16. héten



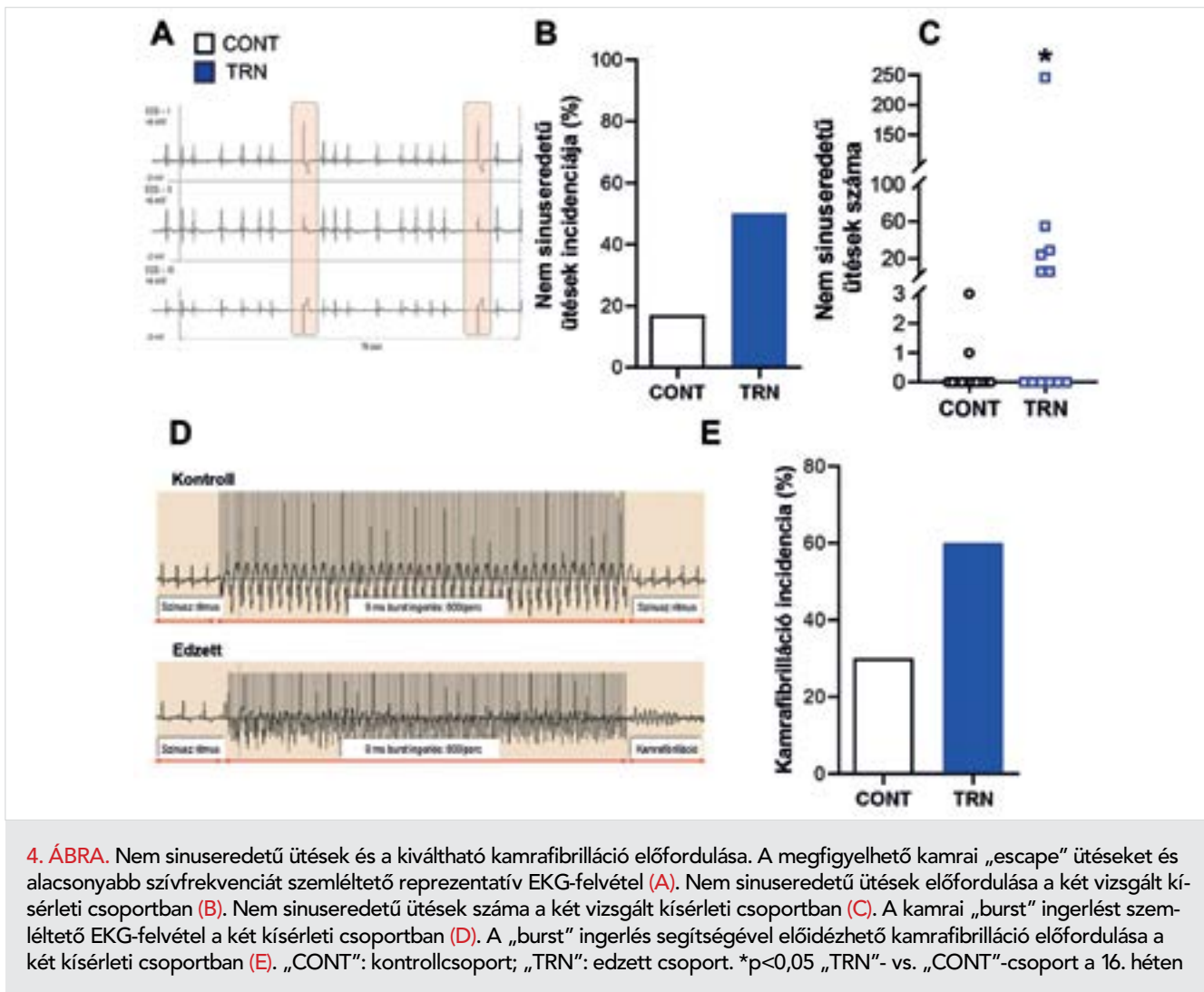
**3. ÁBRA.** A tartós edzés hatása az EKG-intervallumokra éber kutyákban. A prezentált EKG-paramétereket a krónikus edzés végén regisztráltuk. QT<sub>c</sub>: frekvencia-korrigált QT-intervallum. Az „n” számok a bevont kutyák számát jelzik. „CONT”: kontrollcsoport; „TRN”: edzett csoport. Az adatokat átlag ± SEM-ben fejeztük ki. \* $p < 0,05$  „TRN”- vs. „CONT”-csoport a 16. héten

**Az I<sub>to</sub> alegységek mennyiségi analízise: a Kv4.3 and KChIP2 alegységek vizsgálata az edzett és kontrollállatok bal kamrai szövetében**

A csökkent I<sub>to</sub> amplitúdó háttérében meghúzó molekuláris folyamatok feltérképezéséhez megvizsgáltuk az I<sub>to</sub>-csatorna felépítésében fontos szerepet játszó Kv4.3 alfa és KChIP2 béta-alegységek expresszióját Western-blot és immunocitokémiai módszerekkel. Azonban egyik technikával sem találtunk különbséget a fehérjék expressziója között.



**2. ÁBRA.** A tartós edzés hatása a szívfrekvenciára és a szívfrekvencia-variabilitásra éber kutyákban, valamint az izolált jobb pitvari szövetpreparátumok spontán frekvenciájára. A **2. A ÁBRA** a bradycardia mértékét, a **2. B ÁBRA** pedig az éber kutyák szívfrekvencia-variabilitási értékeit mutatja a „CONT”-csoportban (16. héten; n=12 kutyá) és a „TRN”-csoportban (16. héten; n=12 kutyá) az edzési protokoll végén. Az rmsSD-RR az egymást követő RR-intervallumok különbségeinek négyzetgyöke. A **2. C ÁBRA** a „CONT” (n = 11) és a „TRN” (n = 12) kutyák jobb pitvari preparátumainak spontán frekvenciáját mutatja. Az „n” számok a bevont kutyák számát jelzik. CONT”: kontrollcsoport; „TRN”: edzett csoport. Az adatokat átlag ± SEM-ben fejeztük ki. \* $p < 0,05$  „TRN”- vs. „CONT”-csoport a 16. héten



**4. ÁBRA.** Nem sinuseredetű ütések és a kiváltható kamrafibrilláció előfordulása. A megfigyelhető kamrai „escape” ütések és alacsonyabb szívfrekvenciát szemléltető reprezentatív EKG-felvétel (A). Nem sinuseredetű ütések előfordulása a két vizsgált kísérleti csoportban (B). Nem sinuseredetű ütések száma a két vizsgált kísérleti csoportban (C). A kamrai „burst” ingerlést szemléltető EKG-felvétel a két kísérleti csoportban (D). A „burst” ingerlés segítségével előidézhető kamrafibrilláció előfordulása a két kísérleti csoportban (E). „CONT”: kontrollcsoport; „TRN”: edzett csoport. \*p<0,05 „TRN”- vs. „CONT”-csoport a 16. héten

### A HCN4-fehérje upregulációja az edzett állatok bal kamrai szívizomzatában

Az immunocitokémiai vizsgálatok rámutattak arra, hogy az enzimatikusan izolált bal kamrai szívizomsejtekben a HCN4-fehérje expressziója nagyobb volt a „TRN”-állatokban a „CONT”-csoporthoz képest. Ugyanakkor nem volt szignifikáns különbség a HCN1-, illetve a HCN2-fehérjék expressziójában a csoportok között.

### Megbeszélés

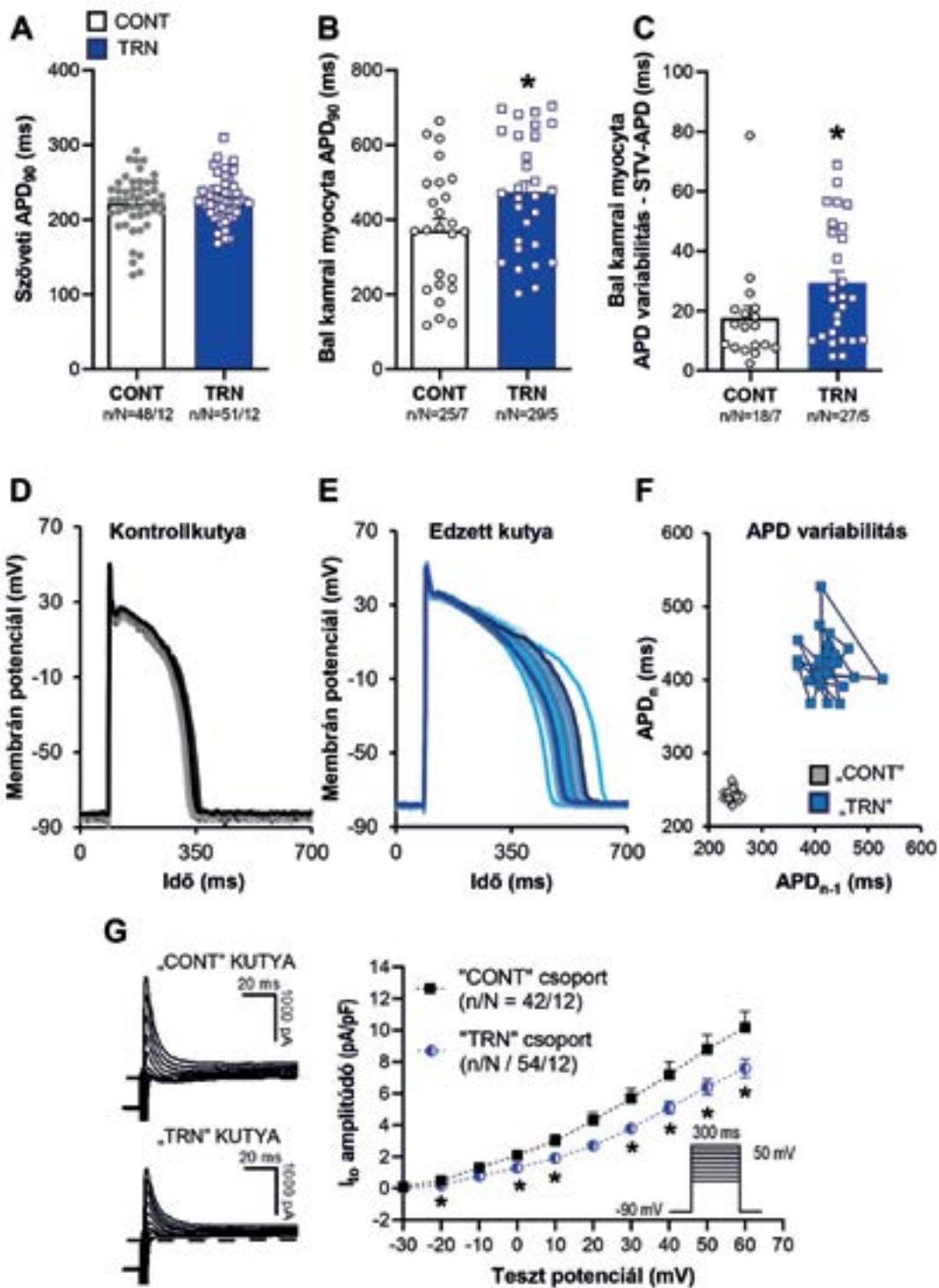
Az experimentális vizsgálatok tervezésekor kiemelt fontosságú a megfelelő állatmodell megválasztása. Ugyan a kistrágcshaló-modelleket (pl. egér, patkány) széles körben alkalmazzák, elektrofiziológiai tulajdonságaik jelentősen eltérnek a humán szívtől. Más állatok, mint a nyulak és tengerimalacok elektrofiziológiai szempontból jobban hasonlítanak a humán szívhez, fontos azonban megjegyezni, hogy ezen szívek esetén az I<sub>to</sub>-csatorna karakterisztikája eltér az emberek szívtől. Kutyaszíveken végzett celluláris elektrofiziológiai

vizsgálatok rendkívül magas transzlációs jelentőséggel bírnak: mindamellett, hogy frekvenciájuk alacsonyabb, ioncsatorna-összetételben és funkcióban is jól megközelítik a humán szívet.

Jelentős humán relevanciával bíró, nagyállat-sportszívmodellünk betekintést enged a tartós, nagy intenzitású állóképességi edzéssel kapcsolatos sportszív struktúrális és elektrofiziológiai elváltozásokba és az ezekkel összefüggésbe hozható fokozott kamrai aritmiaérzékenység mechanizmusába.

### A tartós intenzív edzés hatására kialakuló szív-morfológiai változások

A sportolás gyakorisága és természete alapvetően befolyásolja a szívizomzat fiziológiás válaszát és adaptációját (18). Az echokardiográfiai és boncolási vizsgálataink egyaránt megerősítették a bal kamrai hipertrofia jelenlétét az edzett csoportban. Hasonlóan a modellünkben talált eredményekhez, *Toufan* és *munkatársai* a bal kamrai végdiasztolés átmérő szignifikáns növekedését figyelték meg a dinamikus sportot űző versenyzők körében (19). Hasonlóan a humán sportolói ada-



**5. ÁBRA.** A tartós edzés hatása *in vitro* elektrofiziológiai hatásai. Az **5. A ÁBRA** az APD<sub>90</sub>-értéket ábrázolja a „CONT” és „TRN” állatok jobb kamrai papilláris izompreparátumaiban (multicelluláris szöveti preparátumok; n/N=48 preparátum/12 kutya a „CONT”-csoportban és n/N=51 preparátum/12 kutya az edzett csoportban). Az **5. B ÁBRA** APD<sub>90</sub>-értéket ábrázolja „CONT”- és „TRN”-állatok bal kamrai izolált midmiokardiális szívizomsejtjeiben (n/N=25 sejt/7 kutya a „CONT”-csoportban, n/N=29 sejt/5 kutya az „TRN”-csoportban). Az **5. C ÁBRA** az izolált szívizomsejtjeiben regisztrált APD<sub>90</sub> rövidtávú variabilitását szemlélteti (n/N=18 sejt/7 kutya „CONT”-csoportban, n/N=27 sejt/5 kutya az „TRN”-csoportban). Az **5. D** és **5. E ÁBRÁK** a bal kamrai szívizomsejtek reprezentatív akcióspotenciál-görbéket szemlélteti a „CONT”- és a „TRN”-csoportokban. Az **5. F ÁBRA** reprezentatív Poincaré plot-on mutatja az izolált bal kamrai miociták APD<sub>90</sub>-értékének emelkedett rövid távú variabilitását. Az **5. G ÁBRA** a „TRN”-kutyák szívéből izolált bal kamrai myocyták csökkent amplitúdójú tranziens kifelé irányuló K<sup>+</sup>-áram (I<sub>to</sub>) reprezentatív felvételét és a feszültség-áram karakterisztikáját mutatja a „CONT”-csoporthoz képest. Az „n” a mérések számát, míg az „N” a bevont kutyák számát jelzi. CONT”: kontrollcsoport; „TRN”: edzett csoport. Az adatokat átlag ± SEM-ben fejeztük ki. \*p<0,05 „TRN”- vs. „CONT”-csoport

tokhoz, a bal kamrai ejekciós frakció változatlan maradt az edzett csoportban (20, 21). A relatív falvastagsági paraméter, ami a kamrai falvastagság és a bal kamrai végdiasztolés átmérő arányát tükrözi, nem változott jelentősen a vizsgált csoportok között. Kifejezett excentrikus hipertrófiára a csökkent relatív falvastagság jellemző, viszont bal kamrai hipertrófia létrejöhet a relatív falvastagság változása nélkül is (22).

Eredményeink arra utalnak, hogy a modellünkben észlelt szívizom-hipertrófia nem feleltethető meg teljesen az excentrikus hipertrófiában tapasztalt strukturális elváltozásoknak. Sokkal inkább hasonlít a nyomásterhelés és térfogatterhelés együttes jelenlétekor kialakuló kardiális átalakulásra.

Az edzett kutyák bal pitvari echokardiográfiás eredményei megfelelnek a magasan edzett sportolóknak megfigyelhető elváltozásokkal, akiknél feltételezhetően a fiziológiai adaptáció eredményeként szintén mérsékelten megnövekedett bal pitvari térfogat és bal pitvari térfogatindex alakul ki (23). Bár munkánk elsősorban a bal kamrai átalakulásra összpontosított, fontos kiemelni, hogy a pitvarokat érintő morfológiai változások kapcsolatba hozhatók az állóképességi sportolóknál gyakrabban megfigyelhető pitvarfibrillációval (24).

### A bradycardia és a mögötte meghúzódó lehetséges folyamatok

Jelen vizsgálatunkban a krónikus edzést követően *in vivo* és *in vitro* körülmények között is megfigyelhető bradycardia lépett fel. Bár az edzés indukálta nyugalmi bradycardia általánosnak tekinthető a sportolók körében (25, 26) és az experimentális sportszívmodellekben egyaránt (6, 15, 27, 28), a kialakulásában szerepet játszó folyamatok máig vitatottak (29). Korábbi tanulmányok a fokozott vagustónus következményének tekintik, míg más tanulmányok vitatják a fokozott paraszimpatikus tónus kizárólagos szerepét. Utóbbi álláspont szerint a sinuscsomó (SAN) morfológiai és intrinsic elektromos átalakulása, pontosabban a SAN HCN4-fehérje downregulációja következtében kifejlődő csökkent „funyony”-áram ( $I_f$ ) denzitás nagyobb jelentőséggel bír, míg a vagustónus szerepe elhanyagolható (27). Azonban érdemes kiemelni azt, hogy a SAN pacemakerfunkciója rendkívül összetett, így nem magyarázható kizárólagosan az  $I_f$ -árammal (30, 31). Az edzett állatokból izolált jobb pitvari preparátumok lassabb frekvenciája alátámasztja a SAN remodellációját, azonban a jelenség celluláris folyamatait nem vizsgáltuk. Másrészt az éber, edzett kutyákban megfigyelt nyugalmi bradycardiával együttesen fellépő emelkedett szívfrekvencia-variabilitás fokozott vagustónusra utalhat (32).

### A nagyállat-sportszívmodellben megváltozik a kamrai repolarizáció

Vizsgálatunkban a kamrai izomzat repolarizációjának megnyúlása következetes megfigyelés volt, mivel nyugalomban az edzett, éber kutyák  $QT_c$ -intervalluma szig-

nifikánsan növekedett, valamint sejtszinten is mértük az akciós potenciál időtartamának (APD) megnyúlását az edzett kutyák bal kamrai szívizomsejtjein. Mindez emelkedett rövid távú variabilitási paraméterekkel társult (STV-QT és STV-APD), amelyek a repolarizáció fokozott időbeli diszperzióját és instabilitását jelzik (33). Az éber, edzett kutyákban jelentkező megnyúlt repolarizáció és emelkedett variabilitási paraméterek celluláris leképződésük miatt értékes és könnyen mérhető, nem invazív biomarkerként szolgálhatnak a repolarizációs rendellenességek vizsgálatához.

Sportszívmodellünkben a repolarizáció meghosszabbodásának hátterében meghúzódó egyik celluláris mechanizmusként az izolált bal kamrai midmiokardiális myocytákban detektált csökkent  $I_{to}$ -áram denzitása áll. Az  $I_{to}$ -áram jelentősége az akciós potenciál 1. repolarizációs fázisában jól ismert. Kutatócsoportunk egyik korábbi tanulmánya alátámasztotta, hogy az  $I_{to}$ -áram gátlása kutyaszívben nyert szubepikardiális izomzatban szignifikáns APD-megnyúláshoz vezetett (34). Jelentős APD-meghosszabbodást csak a bal kamra midmiokardiális régiójában figyelhető meg, ahol az  $I_{to}$  várhatóan erős, de a szubendokardiális bal kamrai papilláris izom APD-je, ahol az  $I_{to}$  viszonylag gyenge, változatlan maradt (35, 36). Kutatásunk alapján az edzett kutyák esetében tapasztalt alacsonyabb  $I_{to}$ -áramsűrűség nem a Kv4.3 alfa vagy a KCHIP2 béta járulékos csatornafehérjék csökkent expressziójának következménye. Az  $I_{to}$ -alegységek expressziójának változása nélkül bekövetkezett áramsűrűség csökkenéséről már korábban is beszámoltak krónikusan edzett patkányok esetében (37). Bár a kutyaszívben ezek a fehérjék tekinthetők a legfontosabb  $I_{to}$ -csatornát meghatározó alegységeknek, nem zárható ki egyéb, jelen kutatásban nem vizsgált járulékos fehérjék befolyásoló hatása, illetve a szignalizációs útvonal szereplőinek modulációja. Bár az alkalmazott mérési körülmények között a többi vizsgált transzmembrán ionáram nagysága nem különbözött szignifikánsan a csoportok között, jelen tanulmányban nem vizsgált intracelluláris jelátviteli útvonalak befolyásolhatják ezek működését.

### A nagyállat-sportszívmodellben kialakuló aritmiák lehetséges mechanizmusai

Általánosan elterjedt nézet, hogy az edzés által felszínre hozott rejtett rendellenességek felelősek a sportolók körében előforduló nemkívánatos kardiovaszkuláris eseményekért. Azonban eredményeink támogatják azt a hipotézist, miszerint a tartós intenzív edzés olyan változásokat idéz elő, amelyek bizonyos körülmények között fokozhatják az akár tragikus kimenetelű események előfordulásának kockázatát. A bradycardia, eredetétől függetlenül, aritmiasubsztrátként hosszabb APD-t és fokozott kamrai repolarizációs diszperziót eredményez. Mindemellett a hosszabb diasztolés intervallumot eredményező bradycardia növeli annak az esélyét, hogy a spontán diasztolés depolarizáció elérje a tüzelési küszö-



böt, ami lehetséges aritmiatriggerként szolgálhat (38). Kutatásunkban az edzett kutyákban megfigyelt jelentős nyugalmi bradycardia mellett az „escape” ütések előfordulása is szignifikánsan emelkedett. A magasan edzett sportolóknál előforduló lassabb nyugalmi szív ciklus mellett időnként sinuspaузák, illetve gyakran többszörös „escape” ütések jelentkezhetnek. Feltehetően ez a fokozott vagus tónus és/vagy SAN-ban vagy az ingerületvezető-rendszer különböző pontjaiban bekövetkezett változások következménye. Sportolóknál azonban általában jóindulatú EKG-mintázatnak tekinthetők.

Az EKG-n a P-hullámhoz kapcsolódó kiszélesedett QRS-komplexum morfológiája szintén elektromos vezetési rendellenességre utalhat (39). Eredményeink rávilágítanak arra, hogy egy bizonyos szint felett végzett erőteljes testmozgás jelentős változásokat idéz elő a szív ingerületvezető rendszerében, amelynek háttérmechanizmusai még tisztázatlanok.

Korábbi vizsgálatok szerint a HCN-csatornák nagymértékben expresszálódnak a hipertrófiás és az elégtelen szív bal kamrájában, ami hozzájárul a fokozott aritmia hajlamhoz (40, 41). Érdekes módon, a hipertrófiával jelentkező nagyállat-sportszívmodellünkben a HCN4-fehérje expressziójának növekedését figyeltük meg a bal kamrai myocytákban. Érdemes megjegyezni, hogy a munkaizomzatban megfigyelt HCN4 fokozott expressziójával párhuzamosan a kamrai elektromos ingerlés által kiváltott kamra fibrilláció előfordulása is megnőtt az edzett állatokban.

Modellünkben fokozott fibrotikus elváltozást észleltünk az edzett állatok bal kamrai régiójában. Szöveti eredményeink jól korrelálnak számos humán sportoló tanulmányával (42–44), és az experimentális sportszívmodellek eredményeivel (15, 28, 45, 46). Mivel munkánk során a bal kamrai régió repolarizációs eltéréseire fókuszáltunk, a fibrózis hátterében meghúzódó molekuláris folyamatokat nem tanulmányoztuk. Ez a fajta strukturális rendellenesség aritmiászubsztrátumként nagymértékben hozzájárulhat a re-entry kamrai aritmia kialakulásához. Fontos kiemelni, hogy a modellünkben megfigyelt repolarizációs változások a bal kamra enyhe fibrózisával együtt fokozott aritmiászubsztrátot eredményezhetnek, ami szélesebb vulnerábilis periódust biztosít a kamrai ritmuszavarok kiváltásához szükséges extraszisztolék számára.

## Következtetés

Jelen munkánk eredményei alapján megállapítható, hogy a jelentős humán transzlációs értékkel bíró sport-szív kutyamodellben a tartós, intenzív futásspecifikus állóképességi edzés a szívizom repolarizációjának megnyúlását és fokozott repolarizációs instabilitást eredményezett, ami enyhe kamrai fibrózissal társult. Ez nem feltétlenül jelenti azt, hogy versenyszintű edzés káros, vagy, hogy az edzés egészséges szívben kamrai aritmiaikat idéz elő. Érzékeny egyéneknél vagy

olyan helyzetekben azonban, amikor a repolarizációs tartalék nem diagnosztizált betegségek (pl. hipertrófiás cardiomyopathia, hosszú QT-szindrómák) vagy elektrolit egyensúlyhiány, dopingszerek (pl. androgén anabolikus szteroidok) vagy egyébként ártalmatlan gyógyszerek miatt károsodott, az állóképességi edzés okozta elváltozások további potenciális kockázati tényezők lehetnek, amelyeket figyelembe kell venni a versenysportban esetlegesen előforduló tragikus kimenetelű események hatékonyabb megelőzésének érdekében.

## Limitáció

A kutyamodell elektrofiziológiai szempontból a legjelentősebb humán relevanciával rendelkező állatmodell (47), azonban munkánkban fellelhető néhány limitáció. A sportolók körében kialakuló szívritmuszavarok nemcsak a kompenzált hipertrófiának és a szív elektromos remodellációjának tulajdonítható, hanem akár több, együttesen fennálló tényező kombinációjának (például a hipertrófiás cardiomyopathia, hosszú QT-szindróma, hypokalaemia) (38), amelyeket a jelen tanulmányban nem vizsgáltunk. Mindemellett jól ismert, hogy a sportolók által széles körben alkalmazott tipikusan nem kardioaktív szerek (pl. androgén anabolikus szteroidok, amfetamin, nem szteroid gyulladáscsökkentők, antibiotikumok, kannabidiol stb.) jelentősen befolyásolják a repolarizációs tartalékot. Ezen tényezők jelentőségét további vizsgálatok fogják feltárni.

## Köszönetnyilvánítás

A tanulmányt az RRF-2.3.1-21-2022-00003 „Nemzeti Szívlaboratórium, Magyarország” azonosítójelű projekt támogatta, mely az Európai Unió támogatásával valósult meg. A TKP2021-EGA-32 számú projekt az Innovációs és Technológiai Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában valósult meg.

## Irodalom

1. Lawler PR, Filion KB, Eisenberg MJ. Efficacy of exercise-based cardiac rehabilitation post-myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am Heart J* 2011; 162: 571–584. <https://doi.org/10.3109/13697137.2015.1020484>
2. Quindry JC, Franklin BA. Exercise Preconditioning as a Cardioprotective Phenotype. *Am J Cardiol* 2021; 148: 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2021.02.030>
3. Aschar-Sobbi R, Izaddoustdar F, Korogyi AS, et al. Increased atrial arrhythmia susceptibility induced by intense endurance exercise in mice requires TNFalpha. *Nat Commun* 2015; 6: 6018. <https://doi.org/10.1038/ncomms7018>
4. Maron BJ, Pelliccia A. The heart of trained athletes: cardiac remodeling and the risks of sports, including sudden death. *Circulation* 2006; 114: 1633–1644. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.106.613562>
5. Merghani A, Malhotra A, Sharma S. The U-shaped relationship between exercise and cardiac morbidity. *Trends Cardiovasc Med* 2016; 26: 232–240. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2015.06.005>
6. Polyak A, Kui P, Morvay N, et al. Long-term endurance training-induced cardiac adaptation in new rabbit and dog animal models of the human athlete's heart. *Rev Cardiovasc Med* 2018; 19: 135–142.

- <https://doi.org/10.31083/j.rcm.2018.04.4161>
7. Mesirca P, Nakao S, Nissen SD, et al. Intrinsic Electrical Remodeling Underlies Atrioventricular Block in Athletes. *Circ Res* 2021; 129: e1–e20. <https://doi.org/10.1161/circresaha.119.316386>
  8. Polyak A, Topal L, Zombori-Toth N, et al. Cardiac electrophysiological remodeling associated with enhanced arrhythmia susceptibility in a canine model of elite exercise. *Elife* 2023, 12. <https://doi.org/10.7554/elife.80710>
  9. Kui P, Orosz S, Takacs H, et al. New in vitro model for proarrhythmia safety screening: IKs inhibition potentiates the QTc prolonging effect of IKr inhibitors in isolated guinea pig hearts. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2016; 80: 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2016.04.005>
  10. Jost N, Virag L, Comtois P, et al. Ionic mechanisms limiting cardiac repolarization reserve in humans compared to dogs. *J Physiol* 2013, 591: 4189–4206. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.26119>
  11. Jost N, Nagy N, Corici C, et al. ORM-10103, a novel specific inhibitor of the Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger, decreases early and delayed afterdepolarizations in the canine heart. *Br J Pharmacol* 2013; 170: 768–778. <https://doi.org/10.1111/bph.12228>
  12. Kohajda Z, Virag L, Hornyik T, et al. In vivo and cellular antiarrhythmic and cardiac electrophysiological effects of desethylamiodarone in dog cardiac preparations. *Br J Pharmacol* 2022; 179: 3382–3402. <https://doi.org/10.1111/bph.15812>
  13. Orvos P, Paszti B, Topal L, et al. The electrophysiological effect of cannabidiol on hERG current and in guinea-pig and rabbit cardiac preparations. *Sci Rep* 2020; 10: 16079. <https://www.nature.com/articles/s41598-020-73165-2#citeas>
  14. Topal L, Naveed M, Orvos P, et al. The electrophysiological effects of cannabidiol on action potentials and transmembrane potassium currents in rabbit and dog cardiac ventricular preparations. *Arch Toxicol* 2021; 95: 2497–2505. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03086-0>
  15. Topal L, Polyak A, Toth N, et al. Endurance training-induced cardiac remodeling in a guinea pig athlete's heart model. *Can J Physiol Pharmacol* 2022; 100: 993–1004. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2022-0073>
  16. Papp R, Gonczi M, Kovacs M, et al. Gap junctional uncoupling plays a trigger role in the antiarrhythmic effect of ischaemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 2007; 74: 396–405. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2007.02.021>
  17. Nagy N, Szuts V, Horvath Z, et al. Does small-conductance calcium-activated potassium channel contribute to cardiac repolarization? *J Mol Cell Cardiol* 2009; 47: 656–663. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.07.019>
  18. Morganroth J, Maron BJ, Henry WL, et al. Comparative left ventricular dimensions in trained athletes. *Ann Intern Med* 1975; 82: 521–524. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-82-4-521>
  19. Toufan M, Kazemi B, Akbarzadeh F, et al. Assessment of electrocardiography, echocardiography, and heart rate variability in dynamic and static type athletes. *Int J Gen Med* 2012; 5: 655–660. <https://doi.org/10.2147/ijgm.s33247>
  20. Pelliccia A, Kinoshita N, Pisicchio C, et al. Long-term clinical consequences of intense, uninterrupted endurance training in olympic athletes. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 1619–1625. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.10.068>
  21. Tahir E, Starekova J, Muellerleile K, et al. Impact of Myocardial Fibrosis on Left Ventricular Function Evaluated by Feature-Tracking Myocardial Strain Cardiac Magnetic Resonance in Competitive Male Triathletes With Normal Ejection Fraction. *Circ J* 2019; 83: 1553–1562. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-18-1388>
  22. Foppa M, Duncan BB, Rohde LE. Echocardiography-based left ventricular mass estimation. How should we define hypertrophy? *Cardiovasc Ultrasound* 2005, 3: 17. <https://doi.org/10.1186/1476-7120-3-17>
  23. D'Andrea A, Cocchia R, Riegler L, et al. Left ventricular myocardial velocities and deformation indexes in top-level athletes. *J Am Soc Echocardiogr* 2010; 23: 1281–1288. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2010.09.020>
  24. Sorokin AV, Araujo CG, Zweibel S, et al. Atrial fibrillation in endurance-trained athletes. *Br J Sports Med* 2011, 45: 185–188. <https://doi.org/10.1136/bjism.2009.057885>
  25. Billman GE. Rebuttal from Billman on Point:Counterpoint: Exercise training-induced bradycardia. *J Appl Physiol* (1985) 2017; 123: 690–691. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00607.2017>
  26. Gourine AV, Ackland GL. Cardiac Vagus and Exercise. *Physiology* (Bethesda) 2019; 34: 71–80. <https://doi.org/10.1152/physiol.00041.2018>
  27. D'Souza A, Bucchi A, Johnsen AB, et al. Exercise training reduces resting heart rate via downregulation of the funny channel HCN4. *Nat Commun* 2014; 5: 3775. <https://doi.org/10.1038/ncomms4775>
  28. Kui P, Polyak A, Morvay N, et al. Long-Term Endurance Exercise Training Alters Repolarization in a New Rabbit Athlete's Heart Model. *Front Physiol* 2021, 12: 741317. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.741317>
  29. Boyett MR, Wang Y, Nakao S, et al. Point: Exercise training-induced bradycardia is caused by changes in intrinsic sinus node function. *J Appl Physiol* (1985) 2017; 123: 684–685. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00604.2017>
  30. Maltsev VA, Lakatta EG. Funny current provides a relatively modest contribution to spontaneous beating rate regulation of human and rabbit sinoatrial node cells. *J Mol Cell Cardiol* 2010, 48: 804–806. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.12.009>
  31. Morad M, Zhang XH. Mechanisms of spontaneous pacing: sinoatrial nodal cells, neonatal cardiomyocytes, and human stem cell derived cardiomyocytes. *Can J Physiol Pharmacol* 2017; 95: 1100–1107. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0743>
  32. Aubert AE, Seps B, Beckers F. Heart rate variability in athletes. *Sports Med* 2003; 33: 889–919. <https://doi.org/10.2165/00007256-200333120-00003>
  33. Lengyel C, Orosz S, Hegyi P, et al. Increased short-term variability of the QT interval in professional soccer players: possible implications for arrhythmia prediction. *PLoS One* 2011; 6: e18751. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018751>
  34. Virag L, Jost N, Papp R, et al. Analysis of the contribution of I(to) to repolarization in canine ventricular myocardium. *Br J Pharmacol* 2011; 164: 93–105. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01331.x>
  35. Zicha S, Moss I, Allen B, et al. Molecular basis of species-specific expression of repolarizing K<sup>+</sup> currents in the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H1641–1649. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00346.2003>
  36. Zicha S, Xiao L, Stafford S, et al. Transmural expression of transient outward potassium current subunits in normal and failing canine and human hearts. *J Physiol* 2004, 561: 735–748. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.075861>
  37. Stones R, Billeter R, Zhang H, et al. The role of transient outward K<sup>+</sup> current in electrical remodeling induced by voluntary exercise in female rat hearts. *Basic Res Cardiol* 2009; 104: 643–652. <https://doi.org/10.1007/s00395-009-0030-6>
  38. Varro A, Baczko I. Possible mechanisms of sudden cardiac death in top athletes: a basic cardiac electrophysiological point of view. *Pflugers Arch* 2010, 460: 31–40. <https://doi.org/10.1007/s00424-010-0798-0>
  39. Crescenzi C, Panattoni G, Stazi A, et al. Ventricular arrhythmias and risk stratification of cardiac sudden death in athletes. *Minerva Cardioangiol* 2020; 68: 110–122. <https://doi.org/10.23736/s0026-4725.20.05178-6>
  40. Cerbai E, Pino R, Porciatti F, et al. Characterization of the hyperpolarization-activated current, I(f), in ventricular myocytes from human failing heart. *Circulation* 1997; 95: 568–571. <https://doi.org/10.1161/01.cir.95.3.568>
  41. Cerbai E, Sartiani L, DePaoli P, et al. The properties of the pacemaker current I(f) in human ventricular myocytes are modulated by cardiac disease. *J Mol Cell Cardiol* 2001, 33: 441–448. <https://doi.org/10.1006/jmcc.2000.1316>
  42. Malek LA, Bucciarelli-Ducci C. Myocardial fibrosis in athletes—Current perspective. *Clin Cardiol* 2020; 43: 882–888. <https://doi.org/10.1002/clc.23360>
  43. van de Schoor FR, Aengevaeren VL, Hopman MT, et al. Myocardial Fibrosis in Athletes. *Mayo Clin Proc* 2016, 91: 1617–1631. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.07.012>
  44. Zhang CD, Xu SL, Wang XY, et al. Prevalence of Myocardial Fibrosis in Intensive Endurance Training Athletes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Cardiovasc Med* 2020; 7: 585692. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.585692>
  45. Benito B, Gay-Jordi G, Serrano-Mollar A, et al. Cardiac arrhythmogenic remodeling in a rat model of long-term intensive exercise training. *Circulation* 2011; 123: 13–22. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.110.938282>
  46. Oh Y, Yang S, Liu X, et al. Transcriptomic Bioinformatic Analyses of Atria Uncover Involvement of Pathways Related to Strain and Post-translational Modification of Collagen in Increased Atrial Fibrillation Vulnerability in Intensely Exercised Mice. *Front Physiol* 2020; 11: 605671. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.605671>
  47. Nanasi PP, Horvath B, Tar F, et al. Canine Myocytes Represent a Good Model for Human Ventricular Cells Regarding Their Electrophysiological Properties. *Pharmaceuticals* (Basel) 2021; 14. <https://doi.org/10.3390/ph14080748>