



A hasonló fokú fiziológiás és patológias balkamra-hipertrófia különböző *in vivo* hemodinamikai következményekhez vezet

Oláh Attila*, Sayour Alex Ali*, Németh Balázs Tamás, Mátyás Csaba, Hidi László, Lux Árpád, Ruppert Mihály, Kellermayer Dalma, Szabó Lilla, Török Marianna, Meltzer Anna, Gellér László, Merkely Béla, Radovits Tamás

Semmelweis Egyetem, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Kísérleti Kutatólaboratórium, Budapest

Levelezési cím: Dr. Oláh Attila PhD, kardiológus szakorvosjelölt, Kísérleti Kutatólaboratórium, SE, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, 1122 Budapest, Városmajor u. 68., e-mail: o.attilio@gmail.com

Célkitűzés: A balkamra (BK)-hipertrófia a szívizom válasza a megnövekedett terhelésre, amely lehet fiziológiás (FH) vagy patológias (PH) természetű. E két állapot funkcionális következményeinek direkt összehasonlításáról még nem született tanulmány. Célunk az FH és PH kisállat-modelljeinek részletes összehasonlító hemodinamikai jellemzése BK-i nyomás-térfogat (P-V) analízis segítségével.

Módszerek: Patkányainkban FH kialakulását úszóedzéssel (sportszív), PH-t a hasi aorta műtéti szűkítésével (aortic banding, AB) idéztük elő. A szív morfológiai változásait echokardiográfiával követtük. A szív működés részletes jellemzésére BK-i P-V analízist végeztünk. *In vivo* méréseinket hisztológiai és molekuláris biológiai módszerekkel egészítettük ki. Adatainkat az adott modell kontrollcsoportjára normalizáltuk.

Eredmények: Szívultrahanggal hasonló mértékű hipertrófia volt kimutatható fiziológiás és patológias hipertrófiában. Az AB-állatoknál fokozott szubendokardiális fibrózis volt jellemző, míg sportszívben fibrotikus átépülést nem találtunk a myocardiumban. A főtális génprogram reaktiválódása csak PH-ban volt megfigyelhető. FH-ban magasabb verőtérfogatot találtunk, ezzel szemben PH-ban emelkedett végszisztolés nyomás mellett változatlan verőtérfogatot mértünk. A diasztolés funkciót jellemző aktív relaxáció javult sportszívben, azonban nagyfokú romlást mutatott az AB-állatoknál. Az érzékeny BK-i kontraktilitás-indexek mindkét csoportban a hipertrófiával arányosan emelkedtek. Míg a BK mechanikus hatásfoka FH-ban javult, PH-ban változatlan maradt. A mitokondriális markerek génexpressziója csökkent PH-ban.

Következtetések: Munkánkkal elsőként adtunk részletes funkcionális összehasonlítást a fiziológiás és patológias BK-hipertrófia állatmodelljeiben. Mindkét típusú hipertrófiában fokozódik a szívizom kontraktilitása. A karakterisztikus különbségek a diasztolés funkcióban és a BK mechanoenergetikai állapotában mutatkoznak, amelynek hátterében mitokondriális különbségek állhatnak.

Kulcsszavak: fiziológiás hipertrófia, patológias hipertrófia, nyomás-térfogat analízis, mitokondriális markerek

Physiological and pathological left ventricular hypertrophy of comparable degree is associated with characteristic differences of *in vivo* hemodynamics

Purpose: Left ventricular (LV) hypertrophy is a physiological or pathological response of LV myocardium to increased cardiac load. We aimed at investigating and comparing hemodynamic alterations in well-established rat models of physiological hypertrophy (PhyH) and pathological hypertrophy (PaH) by using LV pressure-volume (P-V) analysis.

Methods: PhyH and PaH were induced in rats by swim training and by abdominal aortic banding, respectively. Morphology of the heart was investigated by echocardiography. Characterization of cardiac function was completed by LV P-V analysis. In addition, histological and molecular biological measurements were performed.

Results: Echocardiography revealed myocardial hypertrophy of similar degree in both models, which was confirmed by post-mortem heart weight data. In aortic-banded rats we detected subendocardial fibrosis. Reactivation of fetal gene program could be observed only in the PaH model. PhyH was associated with increased stroke volume, whereas unaltered stroke volume was detected in PaH along with markedly elevated end-systolic pressure values. Sensitive indexes of LV contractility were increased in both models, in parallel with the degree of hypertrophy. Active relaxation was ameliorated in athlete's heart, whereas it showed marked impairment in PaH. Mechanical efficiency and ventriculo-arterial coupling were improved in PhyH, whereas they remained unchanged in PaH. Myocardial gene expression of mitochondrial regulators showed marked differences between PaH and PhyH.

Conclusions: We provided the first comparative hemodynamic characterization of PhyH and PaH in relevant rodent models. Increased LV contractility could be observed in both types of LV hypertrophy; characteristic distinction was detected in diastolic function (active relaxation) and mechanoenergetics (mechanical efficiency), which might be explained by mitochondrial differences.

Keywords: physiological hypertrophy, pathological hypertrophy, pressure-volume analysis, mitochondrial markers

Készült A Oláh, 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: H587–597. cikke alapján, az American Physiological Society írásos engedélyével. *Megosztott elsőszervezők.

Bevezetés

Szívizom-hipertrofia alatt a szívizomsejtek megnövekedéséből adódó szívtömeg-gyarapodást értjük, amely a szívet érő megemelkedett terhelésre adott válasz során fejlődik ki. A patológias és fiziológias szívizom-hipertrofiát eltérő fiziológias és patológias ingerek alakíthatják ki, amelyek különböző strukturális és molekuláris fenotípussal társulnak (1).

Amennyiben a nyomás- vagy térfogat-túlterhelést betegség váltja ki (pl. magas vérnyomás, billentyűbetegség), patológias szívizom-hipertrofia alakul ki, amely kezdetben a megnövekedett biomechanikai stresszt kompenzáló jelenségnek tekinthető és a kardiovaszkuláris funkció fenntartását célozza kóros körülmények között (2). A patológias hipertrofia cardiomyocita vesztéssel (apoptózis, nekrozis), intersticiális fibrózissal, és a főtáls génprogram reaktivációjával jár (1, 3). Ezen állapot előrehaladása idővel szisztolés és diasztolés miokardiális diszfunkcióhoz (szívelégtelenséghez) vezet. A szívelégtelenség incidenciája folyamatosan növekszik az idősödő társadalmakban, amely a leggyakoribb halálokok egyike. Ezen nagyméretű egészségügyi probléma számos kutatást inspirált, amelyek újfajta gyógyszeres támadáspont azonosítását célozták annak érdekében, hogy megelőzhető vagy visszafordítható legyen a patológias szívizom-hipertrofia kialakulása (4).

A hosszú távú fizikai edzés szintén a szívizom megnagyobbodásával jár, amelyet sportszív néven illetnek. A patológias hipertrofiával ellentétben ezen kiegyensúlyozott miokardiális tömegnövekedés javult szívfunkcióval társul kötőszövetes átalakulás, cardiomyocita apoptózis és a főtáls génprogram változása nélkül (2, 3). Emellett a testedzés protektív hatása a kardiovaszkuláris prevenció és terápia tekintetében széles körben elismertté vált (5, 6). A fiziológias hipertrofiát közvetítő intracelluláris szignálok pontos ismerete potenciális támadáspontot biztosíthat a patológias hipertrofia és a szívelégtelenség terápiájában (7).

A morfológiai hasonlósága ellenére a patológias és fiziológias szívizom-hipertrofia kialakulásában lényegesen eltérő jelátviteli útvonalak játszanak szerepet, amelyhez jelentősen különböző gén- és fehérjeexpressziós jelleg társul (1, 8, 9). Bár számos tanulmány vizsgálta ezen molekuláris eltéréseket, a kétfajta szívmeagnagyobbodás közötti funkcionális különbségek kevésbé feltártak. Mindeztáig a fiziológias és patológias balkamra (BK) -hipertrofia noninvazív módszerekkel történő összehasonlításáról rendelkezünk ismerettel kísérleti állatokon (2, 10) és embereken (11, 12). Ezen kutatások a BK-i funkció számos aspektusát vizsgálták ezen két hipertrofia típusban, azonban a noninvazív módon mért paraméterek függenek a terhelési körülményektől, így ezen vizsgálatok nem elég részletesek ahhoz, hogy pontosan megértsük a szívizomzat mechanikájának eltéréseit.

A nyomás-térfogat (P-V) analízis a jelenleg ismert legátfogóbb technika a szív *in vivo* szisztolés és diasztolés funkciójának, továbbá mechanoenergetikai jellegzetességeinek meghatározásában, amely módszerrel nyert hemodinamikai paraméterek kevésbé függenek a kamrai elő- és utóterheléstől, valamint a szívfrekvenciától (13).

Jelen tanulmányunkban célul tűztük ki, hogy részletes hemodinamikai összehasonlítást adjunk az edzéssel (fiziológias), illetve nyomás-túlterheléssel (patológias) kiváltott BK-hipertrofia esetén, BK-i P-V analízis segítségével két széles körben használt patkánymodellen és vizsgáljuk a különbségek háttérében meghúzódó molekuláris eltéréseket.

Anyagok és módszerek

Állatok, kísérleti csoportok

Vizsgálatainkat a kísérleti állatok tartásáról és felhasználásáról szóló nemzetközi szabályoknak (EU Directive 2010/63/EU; Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, US National Institutes of Health 2011) megfelelően végeztük. Fiatal felnőtt, hím Wistar patkányainkat (m=200-250 g; Toxi-Coop, Dunakeszi, Magyarország) standard körülmények között, konstans 22±2 °C hőmérsékleten, 12 h fény/sötétség ciklusokban tartottuk. Az állatok testtömegét (BW) rendszeresen kontrolláltuk.

Úszóedzés: fiziológias szívizom-hipertrofia modell

Sportoló patkányainkat (Ex, n=12) fokozatos hozzászoktatás után 12 héten keresztül, heti öt napon át, napi 200 percen át úsztattuk, ahogy azt korábban bemutatottuk (14). A kontrollcsoport (Co, n=11) a heti öt alkalom mindegyikén 5 percet töltött a vízben, a vízzel való érintkezés okozta stressz esetleges hatásainak kiküszöbölésére.

Hasi aortaszűkítés: nyomás-indukálta patológias szívizom-hipertrofia modell

A hasi aorta szűkítésével (AB, n=10) a bal kamra fokozott utóterhelését váltottuk ki. A műtéti beavatkozásokat a korábban leírt módon végeztük el (15). Röviden pentobarbitál anesztéziát követően a hasi aorta felkeresése után a suprarenalis szakasz elülső falához egy 0,9 mm külső átmérőjű 20 G-s tompa hegyű tűt helyeztünk. Az aorta keresztmetszetét 2-0 sebészi fonál alkalmazásával a tú méretére szűkítettük. A tú óvatos eltávolításával kapott ligatúrák így a bal kamra hasonló mértékben növekedett utóterhelését hozták létre az állatokban. Az áloperált (Sham, n=8) állatok hasonló műtéti eljárásan estek át a hasi aorta szűkítése nélkül, így kontrollként szolgáltak. Ezt követően az állatokat 6 héten keresztül megfigyeltük.

Echokardiográfia

Az állatokat ip. pentobarbitál (60 mg/ttkg) injekcióval elaltattuk, majd egy fűthető műtőasztal segítségével

vel testhőmérsékletüket állandóan tartottuk (37 °C). Transztorakális szívultrahangos vizsgálatot végeztünk, amely során kétdimenziós hossz- és keresztmetszeti, valamint M-mód felvételeket készítettünk egy 13 MHz-es lineáris ultrahangfej (GE 12L-RS, GE Healthcare, USA) segítségével. Egy képelemző szoftver segítségével (EchoPac, GE Healthcare, USA) a rögzített felvételeken anterior (AWT), poszterior (PWT) és szeptális (IVST) falvastagságot szisztolében (index: s) és diasztolében (index: d), valamint BK-i végdiasztolés és vég-szisztolés átmérőt (LVEDD, illetve LVESD) és areákat mértünk, majd ezekből morfológiai és funkcionális paramétereket számítottunk: frakcionális rövidülést (FS), végdiasztolés (LVEDV) és vég-szisztolés (LVESV) térfogatokat, ejekciós frakciót (EF). A bal kamrai szívizomtömeget (LV-mass) a korábban leírt módon számoltuk, majd ezt az értéket a poszt-mortem mért tibiahosszra normalizáltuk (LV-mass index).

Hemodinamikai mérések: bal kamrai P–V-analízis

A kísérleti protokoll végéhez érve a patkányokat ip. pentobarbitál (60 mg/ttkg) injekcióval elaltattuk, tracheotomia és intubáció után mesterségesen lélegeztettük, testhőmérsékletüket a kísérlet során 37 °C-on tartottuk. A jobb oldali arteria carotis communis felől egy 2Fr-es nyomás-konduktancia mikrokatót (SPR-838, Millar Instruments, USA) vezetünk a felszálló aortába, ahol stabilizáció után artériás középnyomást (MAP) mértünk. A katótort a bal kamrába továbbvezetve regisztráltuk a bal kamrai nyomás- és térfogatviszonyokat és kiszámítottuk a következő hemodinamikai paramétereket: bal kamrai vég-szisztolés nyomás (LVESP), bal kamrai végdiasztolés nyomás (LVEDP), BK-i szisztolés nyomásnövekedés maximális sebessége (dP/dt_{max}), BK-i diasztolés nyomáscsökkenés maximális sebessége (dP/dt_{min}), BK-i relaxáció időkonstansa (τ), BK-i végdiasztolés térfogat (LVEDV), BK-i vég-szisztolés térfogat (LVESV), SV, EF, perctérfogat (CO), szívindex ($CI=CO/BW$), verőmunka (SW) és teljes perifériás ellenállást ($TPR=MAP/CO$). A volumenértékek meghatározását a korábban leírt kalibráció segítségével végeztük (16).

A vena cava inferior kompressziója mellett regisztrált bal kamrai nyomás–térfogat–összefüggések segítségével érzékeny, elő- és utóterheléstől független balkamrai kontraktilitás-indexeket számítottunk: a vég-szisztolés nyomás–térfogat–összefüggés meredekségét (ESPVR), a verőmunka – végdiasztolés térfogat összefüggés meredekségét (az ún. preload recruitable stroke work, PRSW) és a dP/dt_{max} – végdiasztolés térfogat összefüggés meredekségét (dP/dt_{max} -EDV). A BK-i végdiasztolés nyomás–térfogat–összefüggés meredeksége (EDPVR) a BK-i falmerevség megbízható jelzője (17). A P–V-analízis során a BK működésének mechanoe-nergetikáját jellemző paramétereket mértünk és számítottunk a korábban leírtaknak megfelelően (18, 19). A mechanikus határfokot (E_{ff}) a verőmunka (SW) és a

P–V-terület (PVA) hányadosa határozta meg, amelyet PVAN szoftverrel számoltunk ki. Az artériás elasztanciát (E_a) a következő képlet alapján számítottuk: $LVESP/SV$. A ventrikulo-arteriális kapcsolás (VAC) az $E_a/ES-PVR$ képlet alapján került kiszámításra.

A mellkas megnyitását követően oxigenált Ringer-oldatot (37 °C) infundáltunk a BK-ba a szívcsúcson keresztül, annak érdekében, hogy eltávolítsuk a vörösvértesteket a szívizomszövetből. A szív eltávolítását követő szívtömegmérés után BK-i izomszövetet konzerváltunk szövettani és molekuláris biológiai mérésekre. Végül megmértük az állat tibia-hosszát (TL) és erre normalizáltuk a szívtömeg-értékeket.

Szövettan

A BK-i szívizomszövet mintákat formalinban fixáltuk, majd paraffinba ágyasztuk. Ezen transzmurális szívizomszövet-metszetek (5 μ m vastag) hematoxilin-eozin (HE) és picrosirius vörös festése után fénymikroszkóppal vizsgáltuk a szöveti szerkezetet. A HE festett metszeteken állatonként 100 db hosszmetsetben elhelyezkedő, véletlenszerűen kiválasztott cardiomyocita sejtmagján áthaladó harántát-mérőjét mértük, majd az értékeket állatonként átlagoltuk. A picrosirius vörös festés esetében a szívizom kollagén tartalmát szoftver segítségével kvantifikáltuk.

Kvantitatív valós idejű polimeráz láncreakció (qRT-PCR)

A konzervált szívizomszövet-mintákból RNS-t izoláltunk, majd reverz transzkripciót végeztünk kereskedelemben kapható kitek segítségével. cDNS-mintáinkból qRT-PCR reakciót hajtottunk végre miokardiális hipertrófia markerek: α -miozin nehéz lánc (α -MHC), β -miozin nehéz lánc (β -MHC), és pitvari natriuretikus peptid (ANF); endogén antioxidánsok: kataláz (Cat), szuperoxid-dizmutáz 2 (SOD_2), és tioredoxin-1 (TRX-1); gyulladásos markerek: interleukin-1 β (IL-1 β), tumornekrózis-faktor- α (TNF α), és transzformáló növekedési faktor- β_1 (TGF β_1); továbbá mitokondriális markerek: peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor gamma ko-aktivátor-1- α (PGC-1 α), nukleáris respirációs faktor-1 (NRF1), ösztrogénhez köthető receptor- α (ERR α), peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor- α (PPAR α), és citokróm-c (CytC) expressziójának vizsgálatára. Adatainkat a gliceraldehyd-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH) expressziójára normalizáltuk.

Statisztikai elemzés

Minden adatot $\text{átlag} \pm \text{SEM}$ formájában adtuk meg. Adataink normál eloszlásának igazolása (Shapiro–Wilks-teszt) után Student-féle kétmintás t-próbát használtunk. A kétfajta hipertrófia funkcionális összehasonlítása során az egyes hipertrófiás állatok értékeit az adott kontrollállatok átlagértékére normalizáltuk, majd ezen normalizált adatokat hasonlítottuk össze Student-féle kétmintás t-próbával. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

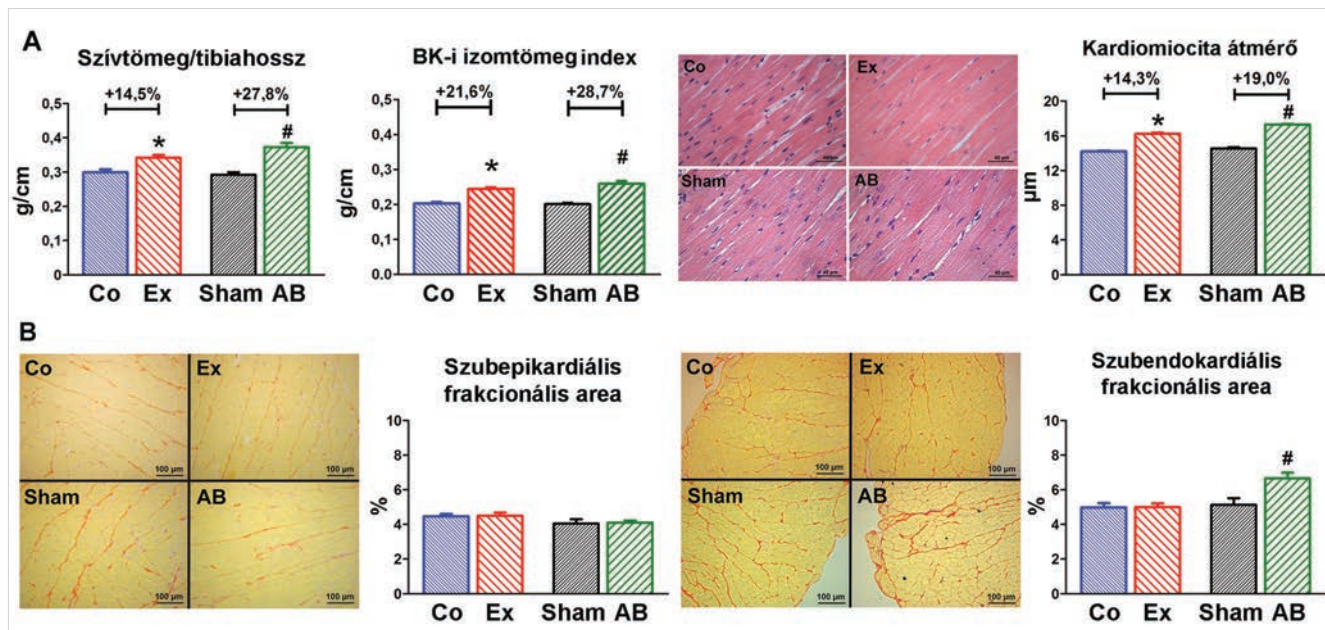
Testtömeg- és szívtömeg-adatok

A sportoló patkányok testtömege csökkent a kontrollokhoz képest (402 ± 10 g Ex vs. 469 ± 10 g Co; $p < 0,001$), míg a patológias hipertrofia modellállatainak tömege változatlan maradt (421 ± 14 g Sham vs. 435 ± 16 g AB; $p = 0,517$). A tibiahosszra normalizált szívtömeg-értékek

a fiziológias és patológias hipertrofiában magasabbnak adódtak (1. A ábra).

Echokardiográfia

A szívultrahangos mérések adatait az 1. táblázat mutatja. Mindkét modellben megnövekedett az LVAWT és LVPWT szisztolében és diasztolében. Míg az LVEDD



1. ÁBRA. A bal kamrai (BK) hipertrofia jellemzése. A: poszt-mortem mért, tibiahosszra normalizált szívtömeg-értékek és szívultrahanggal meghatározott BK-izomtömegindex, továbbá szövettani elemzés során a BK-i cardiomyocyták átlagos átmérője emelkedett értékeket mutattak az úszó (Ex) és aorta szűkített (AB) állapotokban a kontrollokhoz (Co és Sham) képest. Ez BK-hipertrofiára utal mindkét modell esetében. **B:** picrosirius vörös festéssel (ahol a vörös festődésű területek a kollagén rostokat mutatják) változatlan kollagénsűrűséget detektáltunk fiziológias hipertrofiában. Ezzel szemben patológias szívizom-megnagyobbodás során szubendokardiális fibrózist találtunk (a jobb alsó képen, az AB-csoport metszetén nagyobb területű vörös festődés látható). Az értékeket átlag±szórás formában tüntettük fel. * $p < 0,05$ vs. Co; # $p < 0,05$ vs. Sham

1. TÁBLÁZAT. Szívultrahang-adatok

	Fiziológias hipertrofia			Patológias hipertrofia		
	Co	Ex	p-érték	Sham	AB	p-érték
HR (ütés/min)	357±15	351±10	0,719	378±24	382±11	0,874
LVAWTd (mm)	1,96±0,02	2,17±0,02	<0,001	1,95±0,02	2,19±0,03	<0,001
LVAWTs (mm)	3,02±0,05	3,37±0,06	<0,001	2,94±0,10	3,32±0,07	0,005
LVPWTd (mm)	1,82±0,03	1,93±0,02	0,001	1,78±0,01	2,06±0,04	<0,001
LVPWTs (mm)	2,91±0,04	3,09±0,04	0,007	2,84±0,06	3,09±0,04	0,002
LVEDD (mm)	6,85±0,05	6,89±0,03	0,527	6,79±0,08	6,95±0,08	0,199
LVEDS (mm)	4,06±0,08	3,45±0,09	<0,001	3,99±0,17	4,22±0,11	0,245
FS (%)	41,4±0,7	50,0±1,1	<0,001	41,3±2,3	40,5±1,3	0,739
EF (%)	65,5±1,3	73,0±1,3	<0,001	65,1±1,5	62,4±1,3	0,191
LV-mass (g)	0,87±0,01	0,98±0,01	<0,001	0,85±0,02	1,03±0,02	<0,001
LV-mass index, (g/cm)	0,202±0,004	0,246±0,003	<0,001	0,202±0,003	0,260±0,007	<0,001

Az értékeket átlag±szórás formában tüntettük fel. HR: szívfrekvencia; bal kamrai anterior (LVAWT) és posterior (LVPWT) falvastagság-értékek végszisztolében (index: s) és végdiasztolében (index: d); FS: frakcionális rövidülés; LV-mass: bal kamrai izomtömeg; LV-mass index (tibiahosszra normalizált LV-mass) bal kamrai végdiasztolés (LVEDD) és végszisztolés (LVEDS) átmérők; SV: FS: frakcionális rövidülés; EF: ejekciós frakció

változatlan maradt, addig az LVESD csökkent fiziológias hipertrófiában. Patológias hipertrófia esetében változatlan kamrai dimenziókat találtunk. Ebből adódóan az FS és EF, a szisztolés funkció hagyományos paraméterei, az úszó állatokban megemelkedtek, míg az aortaszűkített patkányokban változatlanok maradtak. Mindkét hipertrófiás csoportban markánsan emelkedett LV-mass és LV-mass index értékeket találtunk, amely hasonló fokú BK-i hipertrófiát jelzett a két modellben (1. táblázat és 1.A ábra).

Hemodinamikai mérések

A 2. ábra mutatja a Co, Ex, Sham, és AB-csoportok egy-egy reprezentatív állatának jellegzetes P–V-hurkait. Az úszó patkányokban ezen hurkok kiszélesedését figyeltük meg. Az AB-patkányokban a hurkok enyhe fokú jobbrtolódását és jelentősen emelkedett végszisztolés nyomásértékeket detektáltunk nyugalomban. A 2. táblázat mutatja, hogy az úszó állatokban az LVESV csökkent, míg a HR, MAP, BK-i nyomásértékek, dP/dt_{max} , és dP/dt_{min} értékek változatlanok maradtak. Ebből adódóan a sportoló patkányokban emelkedett SV, EF, CO, és CI-paramétereket dokumentáltunk a kontrollállatokhoz képest. A nyomástűlterhelés okozta patológias hipertrófia esetében emelkedett MAP, LVESP, és dP/dt_{max} értékeket regisztráltunk változatlan HR, LVEDP, és dP/dt_{min} mellett. Az LVEDV, LVESV és SV csak tendenciális növekedést mutatott, tehát az EF, CO és CI nem különbözött a Sham és AB-csoportok között.

A BK-i relaxáció terheléstől független mutatója, a τ , szignifikánsan javult fiziológias hipertrófiában, azonban patológias szívizom-megnagyobbodás esetén nagymértékben romlott (2. táblázat és 4. ábra).

A 3. ábra csoportonként egy-egy állat reprezentatív P–V hurkait mutatja be csökkenő előterhelés mellett.

Az ESPVR, PRSW, és dP/dt_{max} -EDV eredményeit a 3. ábra demonstrálja. Mindhárom érzékeny kontraktilitási paraméter hasonló mértékben növekedett a két típusú hipertrófiában (3. és 4. ábra). Emellett ezen paraméterek pozitív lineáris összefüggést mutattak a BK izomtömegértékekkel valamennyi állat adatait figyelembe véve (3. ábra).

Meghatároztuk az EDPVR-t, amely a BK-i falmerőség érzékeny mutatója. Értéke egyik hipertrófia típusban sem mutatott szignifikáns különbséget (2. táblázat, 4. ábra).

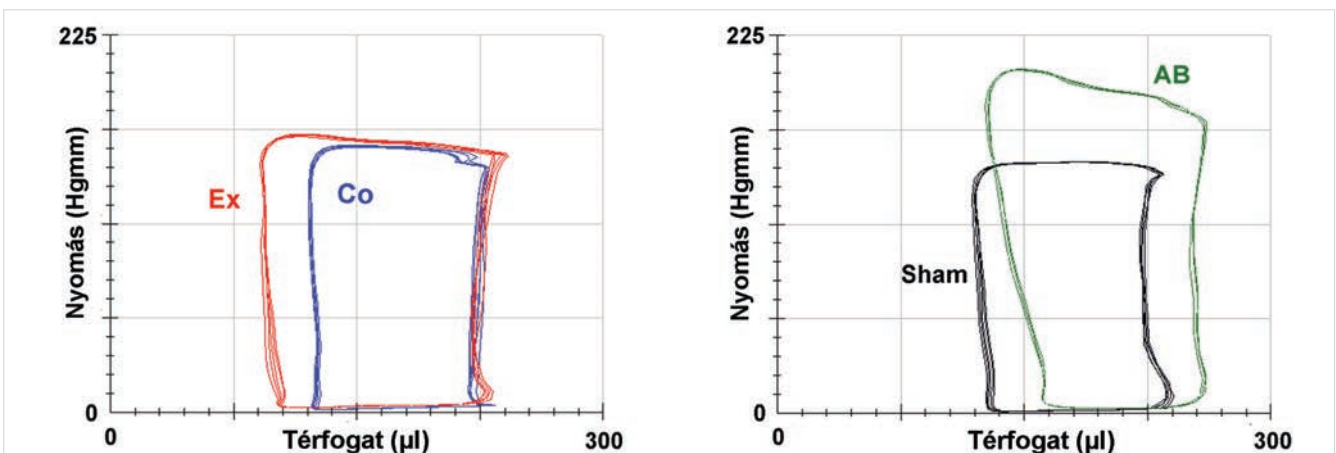
A mechanoenergetikát illetően eredményeink az SW megnövekedését mutatták mindkét modellben. A PVA azonban csak a patológias hipertrófiában emelkedett meg (5. ábra). Ebből adódóan a BK-i funkció mechanikus hatásfoka javult a fiziológias, míg változatlan maradt a patológias szívizom-megnagyobbodás modelljében (5. ábra). Emellett a VAC kedvezőbb ventrikulo-arteriális kölcsönhatást mutatott az úszó állatokban a kontrollokhöz képest, míg változatlan maradt az aortaszűkített állatok esetén (2. táblázat).

Szövettan

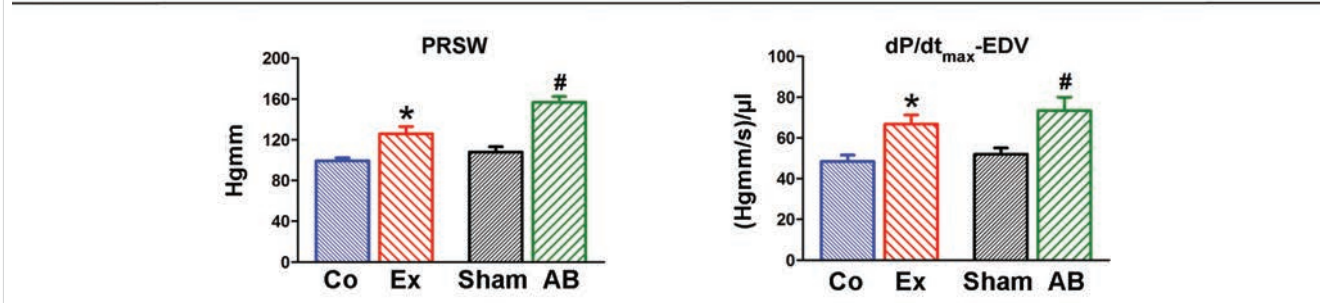
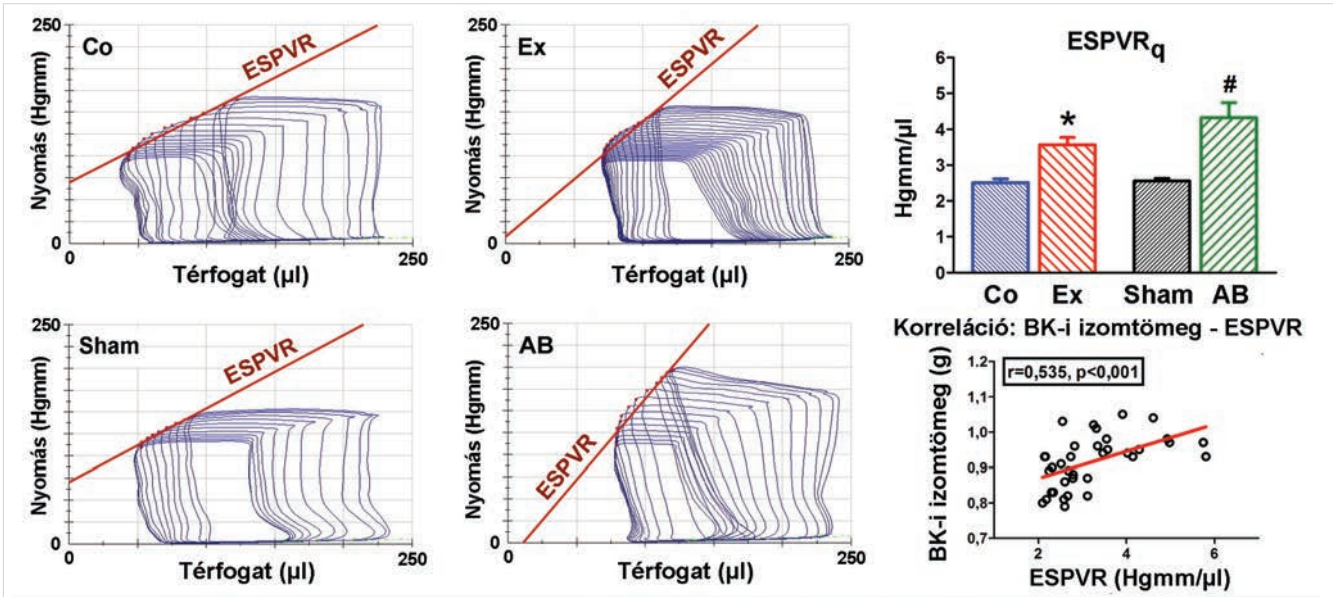
Megnövekedett cardiomyocita átmérőt találtunk az úszó és aortaszűkített csoportokban a kontrollokhöz képest (1. A ábra). A picrosirius vörös festés nem mutatott kollagénlerakódást az úszó állatok myocardiumában. Ezzel szemben patológias hipertrófiában szubendokardiálisan (de nem szubepikardiálisan) emelkedett kollagéntartalmat találtunk (1. B ábra).

Génexpresszió

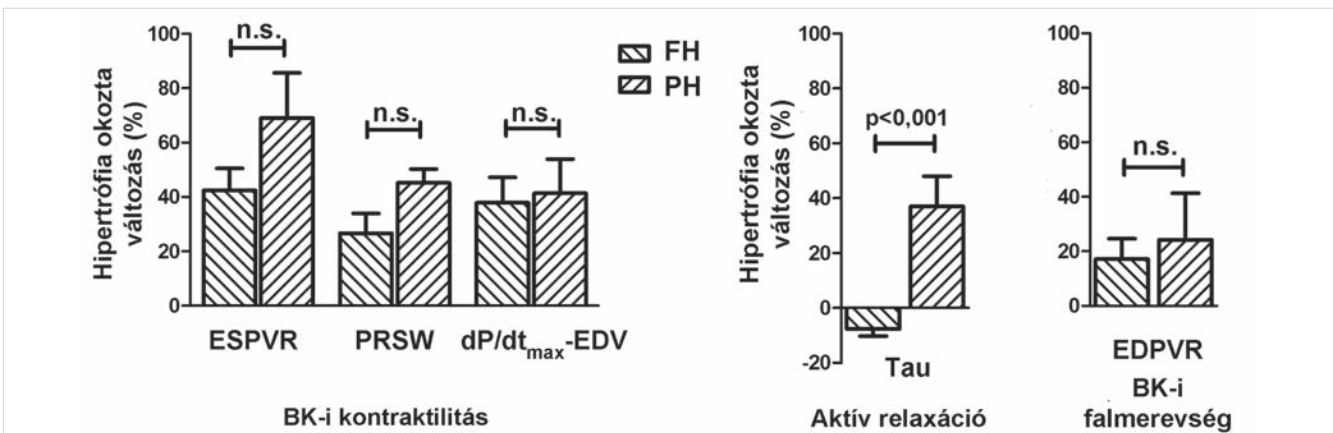
Az ANF és β -MHC miokardiális génexpressziója markáns növekedést mutatott, míg az α -MHC csökkent (ennek eredményeképpen csökkent az α -MHC/ β -MHC



2. ÁBRA. Nyugalmi nyomás-térfogat (P–V) hurkok. Az Ex, Co, AB, és Sham csoport egy-egy állatának reprezentatív nyugalmi P–V-hurkait szemlélteti. A bal oldali P–V-diagrammon az edzett állatok esetén megfigyelt kiszélesedett P–V-hurkok emelkedett verőtérfogatra utalnak, amely megtartott végdiasztolés térfogat mellett a csökkent végszisztolés térfogat következménye. A nyomástűlterheléssel összefüggő patológias hipertrófiában markánsan emelkedett bal kamrai szisztolés nyomást továbbá tendenciálisan növekvő végszisztolés és végdiasztolés térfogatot (a P–V-hurkok enyhe mértékű jobbrtolódása) regisztráltunk a Sham csoporthoz viszonyítva



3. ÁBRA. Bal kamrai (BK) kontraktilitás fiziológiai és patológiai szívizom-hipertrofiában. Nyomás-térfogat (P-V) analízis során érzékeny, terheléstől független BK-i kontraktilitás paraméterek számíthatók, a szív előterhelésének fokozatos csökkentésével. Az ábra felső részén előterhelést csökkentő manőver során regisztrált reprezentatív P-V-hurkok láthatók. A végszisztolés P-V-összefüggés meredeksége (ESPVR_q) megnövekedett az Ex és AB-csoportokban a Co és Sham csoportokhoz képest. A kontraktilitás ezen érzékeny paramétere erős korrelációt mutatott a BK-i izomtömeg mértékével. Két másik érzékeny kontraktilitás paraméter, a vér munka – végdiasztolés térfogat-összefüggés meredeksége (PRSW) és maximális dP/dt – végdiasztolés térfogat-összefüggés meredeksége (dP/dt_{max}-EDV) megnövekedett mindkét hipertrofia típusban. Az értékeket átlag±szórás formában tüntettük fel. *p<0,05 vs. Co; #p<0,05 vs. Sham



4. ÁBRA. A bal kamrai (BK) funkciót jellemző, érzékeny paraméterek változásainak direkt összehasonlítása fiziológiai és patológiai szívizom-hipertrofia esetén. Az érzékeny BK-i kontraktilitás-paraméterek, mint a végszisztolés nyomás-térfogat-összefüggés meredeksége (ESPVR), a vér munka – végdiasztolés térfogat-összefüggés meredeksége (PRSW) és a szisztolés nyomásnövekedés maximális sebessége – végdiasztolés térfogat összefüggés meredeksége (dP/dt_{max}-EDV), hasonló mértékben növekedett BK-i kontraktilitást mutattak a fiziológiai (FH) és patológiai (PH) hipertrofia esetén. A diasztolés kezdetét, vagyis a BK-i relaxációt terheléstől függetlenül jellemző marker, a Tau (τ) esetében markáns különbség adódott. A fiziológiai hipertrofiában megfigyelhető javult diasztolés funkcióra utal a csökkent τ , míg patológiai hipertrofiában az aortaszűkítésen átesett állatok esetében az aktív relaxáció markáns romlását figyeltük meg (megnövekedett τ). Mindkét hipertrofiatípus esetében a BK-falmerevség tendenciális növekedését találtuk, a két modell közötti különbség nélkül. Az értékeket átlag±szórás formában tüntettük fel. ns., nem szignifikáns

2. TÁBLÁZAT: Hemodinamikai adatok

	Fiziológias hipertrófia			Patológias hipertrófia		
	Co	Ex	p-érték	Sham	AB	p-érték
HR, ütés/min	412±9	400±8	0,329	429±15	434±11	0,794
MAP, Hgmm	145,3±2,8	142,1±5,2	0,586	142,0±2,0	182,3±7,9	<0,001
LVE SP, Hgmm	154,8±3,4	152,2±8,2	0,761	150,8±2,0	213,4±6,8	<0,001
LVEDP, Hgmm	3,0±0,2	3,7±0,4	0,151	3,9±0,7	4,4±0,4	0,374
dP/dt _{max} , Hgmm/s	9,237±397	9,847±659	0,439	9,103±424	12,185±399	<0,001
dP/dt _{min} , Hgmm/s	-12,191±443	-12,213±670	0,979	-12,390±261	-12,506±676	0,887
τ, ms	12,1±0,3	11,2±0,3	0,036	11,7±0,6	16,6±1,3	0,006
LVEDV, µl	234,4±5,2	239,2±6,1	0,552	239,9±7,2	261,7±9,1	0,100
LVESV, µl	111,5±2,0	98,6±2,3	<0,001	105,7±4,8	114,4±5,1	0,179
SV, µl	123,1±5,5	140,6±4,8	0,026	134,2±7,0	147,2±6,3	0,193
EF, %	52,2±1,4	58,3±0,8	0,001	55,9±2,1	56,3±1,3	0,861
CO, ml/min	50,6±2,0	56,2±1,5	0,037	58,5±3,9	63,7±2,8	0,281
CI, (ml/perc)/100 g BW	10,9±0,5	14,2±0,4	<0,001	13,8±1,1	14,7±0,7	0,485
SW, Hgmm·ml	14,7±0,8	18,0±0,8	0,009	15,6±1,2	22,7±1,2	0,001
EDPVR, Hgmm/µl	0,036±0,003	0,042±0,003	0,131	0,034±0,004	0,042±0,006	0,256
TPR, Hgmm/(ml/perc)	2,91±0,09	2,54±0,12	0,034	2,52±0,18	2,95±0,22	0,167
E _a , Hgmm/µl	1,33±0,05	1,09±0,08	0,021	1,07±0,05	1,48±0,07	0,001
VAC	0,53±0,03	0,32±0,03	<0,001	0,42±0,02	0,37±0,03	0,188

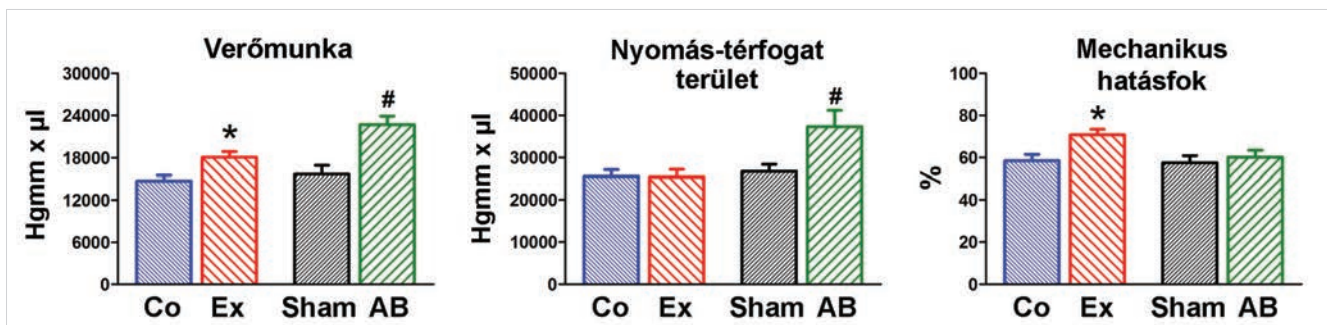
Az értékeket átlag±szórás formában tüntettük fel. MAP: artériás középnyomás; LVE SP és LVEDP: bal kamrai végszisztolés, illetve végdiasztolés nyomás; LVEDV és LVESV: bal kamrai végdiasztolés, illetve végszisztolés térfogat; SV: verővolumen; CO: perc-térfogat; CI: szívindex; EF: ejekciós frakció; SW: bal kamrai vér-munka; dP/dt_{max} és dP/dt_{min}: maximális, illetve minimális dP/dt; Tau: bal kamrai relaxációs időkonstans; TPR: teljes perifériás ellenállás; E_{es}: bal kamrai végszisztolés nyomás-térfogat összefüggés meredeksége; E_{DPVR}: bal kamrai végdiasztolés nyomás-térfogat összefüggés meredeksége; PRSW: a vér-munka-végdiasztolés térfogat összefüggés meredeksége; dP/dt_{max}-EDV: a maximális dP/dt-végdiasztolés térfogat összefüggés meredeksége; E_a: artériás elasztancia; Maximal power: maximális bal kamrai teljesítmény; PVA: nyomás-térfogat-terület; VAC: ventrikulo-arteriális kapcsolás

arány) patológias hipertrófiában. Ezen patológias hipertrófiamarkerek expressziója úszókban nem különbözött a kontrollokhoz képest (6. A ábra). Az antioxidáns és gyulladáscsökkentő markerek expressziója tekintetében a csoportok között nem volt különbség (6. B–C ábra). A mitokondriális funkcióval összefüggő markerek expressziója (PGC-1α, NRF1, PPARα, és CytC) nem változott fiziológias hipertrófiában. Ezzel szemben ezen gének expressziója csökkent pa-

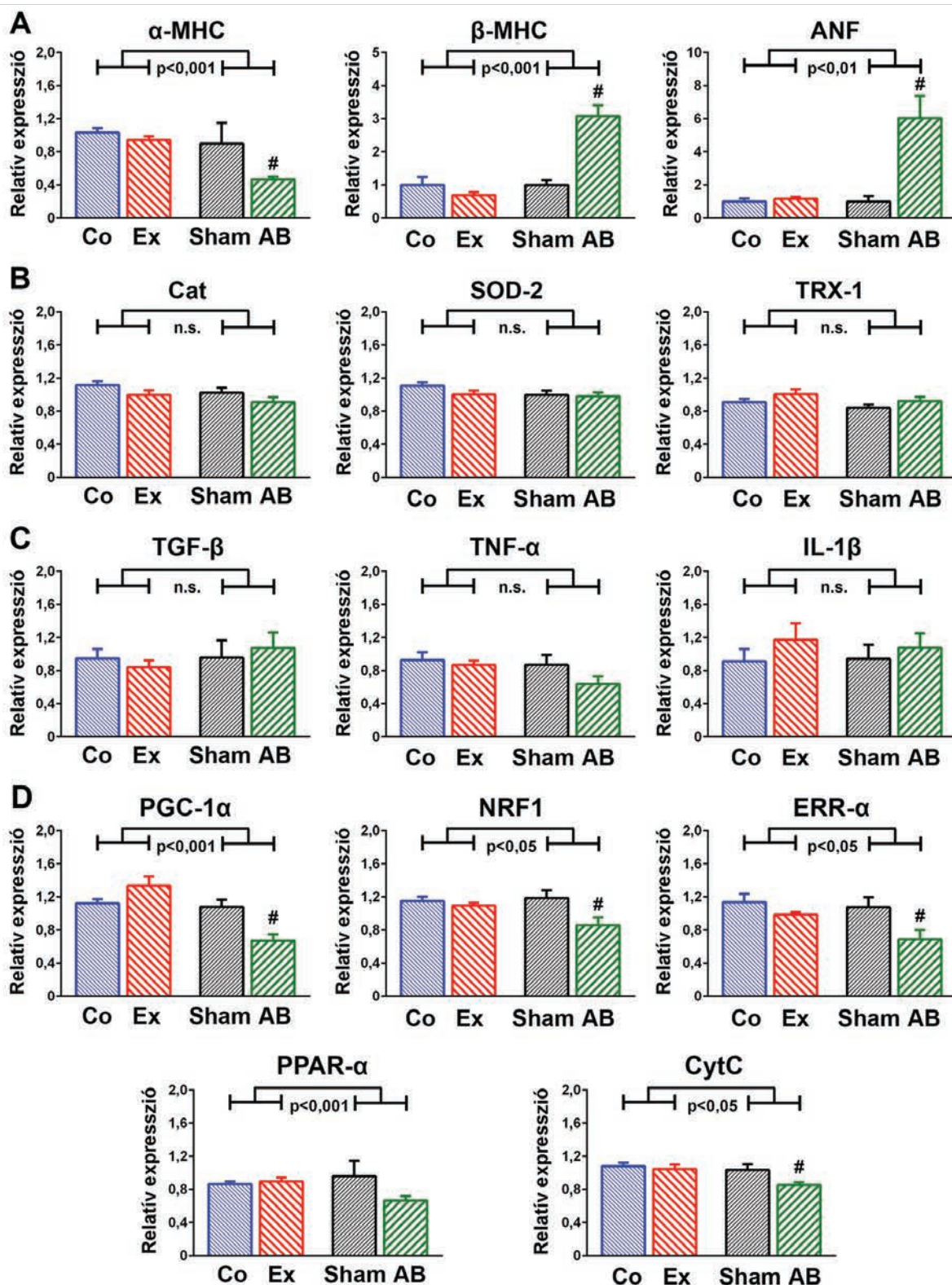
tológias szívizom-megnagyobbzásban, amely jellegzetes különbség a két hipertrófia típus között (6. D ábra).

Megbeszélés

Jelen tanulmány az első, amely direkt, részletes hemodinamikai összehasonlítást ad a fiziológias és patológias



5. ÁBRA. Bal kamrai (BK) mechanoenergetika. A verőmunka, a BK effektív mechanikus munkája, mindkét modell esetében emelkedett volt. A nyomás-térfogat terület, amely a BK-i energiaigénnyel mutat összefüggést, megnövekedett az AB-patká-nyokban a Sham állatokhoz képest. Ez a paraméter azonban nem különbözött fiziológias hipertrófiában a kontrollokhoz képest. Következésképpen a BK mechanikus hatásfoka javult a fiziológias, míg változatlan maradt a patológias szívizom-megnagyobbzás modelljében. Az értékeket átlag±szórás formában tüntettük fel. Co: kontroll, Ex: edzett, Sham: áloperált, AB: aortaszűkített csoport



6. ÁBRA. Miokardiális génexpresszió. A miokardiális hipertrofia markerei: α -miozin nehéz lánc (α -MHC), β -miozin nehéz lánc (β -MHC), és pitvari natriuretikus peptid (ANF); endogén antioxidánsok: kataláz (Cat), szuperoxid-dizmutáz-2 (SOD₂), és tioredoxin-1 (TRX1); gyulladásos marker: interleukin-1 β (IL-1 β), tumornekrózis-faktor- α (TNF α), és transzformáló növekedési faktor- β , (TGF β); továbbá mitokondriális markerei: peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor gamma koaktivátor 1 α (PGC-1 α), nukleáris respirációs faktor-1 (NRF1), ösztrogén-rokon receptor- α (ERR α), peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor- α (PPAR α), és citokrom-c (CytC) relatív expressziója a Co, Ex, Sham, és AB-patkányokban. Az ábrák közepén látható szignifikancia-értékek a két modell közvetlen összehasonlítására vonatkoznak. Az értékeket átlag \pm szórás formában tüntettük fel. * $p < 0,05$ vs. Co; # $p < 0,05$ vs. Sham. ns., nem szignifikáns

laxáció és a bal kamra falmerevsége. A BK-i relaxáció egy aktív, energiatülszóró mechanizmusnak tekinthető, amely leginkább a szarkoplazmás retikulumnak a korai diasztolés során történő kalciumion újrafelvételétől függ (31). A BK-i nyomáscsökkenés időkonstans (τ) a BK-i aktív relaxáció előterheléstől viszonylag független jellemzője (31). Fiziológias hipertrofia esetén a csökkent τ értékek javult relaxációt jeleztek, vagyis rövidebb idejű az izovolumetriás relaxáció szakasza (2. táblázat). Ez összhangban áll a sportszívvvel kapcsolatos korábban publikált eredményeinkkel (14). Ezzel szemben számottevően megnyúlt relaxációt találtunk a patológias hipertrofia esetében (2. táblázat, 4. ábra), amely összhangban áll korábbi tanulmányokkal (26, 28, 30). Az aktív relaxációban észlelhető karakterisztikus különbség összhangban áll humán szívultrahang-tanulmányok eredményeivel, amelyek szerint a hipertrofiás cardiomyopathia és a sportszív a korai diasztolés komponensek alapján különíthető el (32, 33).

A diasztolés kamrai falmerevséget számos faktor mellett leginkább a myocardium intra- és extracelluláris komponenseinek változásai befolyásolják (pl. fibrózis, ödéma) (16). A falmerevséget jellemző EDPVR-értékek esetében a két hipertrofia modell között nem találtunk különbséget (2. táblázat és 4. ábra). Ezen adatok összefüggést mutatnak az edző állatokban megfigyelhető kollagénlerakódás hiányával. Az AB-állatok esetében megfigyelhető kizárólag szubendokardiális fibrózis kevésbé lehet releváns ezen funkcionális paraméter befolyásolásában.

A vérömunka a BK egyetlen szív ciklus alatti külső mechanikus munkája, mely a P–V-hurkok által bezárt terület nagyságából számítható ki (5. ábra és 2. táblázat). A PVA egyenesen arányos a myocardium energia-, tehát oxigénfogyasztásával (34). Míg a fiziológias hipertrofia esetében a kontrollállatokkal megegyező energiafelhasználást figyeltünk meg, addig patológias hipertrofiában annak értéke emelkedett volt (5. ábra). Ennek eredményeképpen a BK-teljesítmény mechanikus hatásfoka emelkedést mutatott sportszív esetében, míg patológias szívizom-hipertrofia esetében változatlan maradt (5. ábra). Eredményeink utalhatnak a már korábban leírt metabolikus különbségekre a szívizom fiziológias és patológias állapotai között: az edzés következtében mind a glükóz- és zsírsavoxidáció mértéke megemelkedik, ezzel szemben patológias hipertrofiában a glükózfelhasználás növekedését csökkenő zsírsavoxidáció kíséri (1).

A szív energiafelhasználásának fontos faktoraként a VAC jellemzi a BK és az artériás rendszer közötti kölcsönhatást az artériás elasztancia és a BK-i végszisztolés elasztancia arányaként (19). Az edzett állatok körében megfigyelt megnövekedett VAC a BK és az artériás rendszer közötti kedvezőbb kapcsolásra utal. A nyomás túlterheléssel összefüggő szívizom-hipertrofia esetében megfigyelhető változatlan VAC utalhat arra, hogy a BK megnövekedett szisztolés teljesítmé-

nye kompenzálja a megnövekedett artériás terhelést (2. táblázat). Ezen megfigyeléseink összhangban állnak humán tanulmányok eredményeivel, amelyek a ventrikulo-arteriális kapcsolást vizsgálták sportolóknál, és magasvérnyomás-betegséggel összefüggő BK-hipertrofiában szenvedő betegeken (35, 36).

A két hipertrofiatípus között jellegzetes különbségeket mutató paraméterek, mint az aktív relaxáció és a mechanikus hatásfok, energiatülszóró mutatók. Ezért vizsgáltuk a mitokondriális transzkripció koaktivátor PGC-1 α miokardiális expresszióját, amely a mitokondriális biogenezis és funkció szabályozásán keresztül a miokardiális energiafelhasználás egyik elsődleges regulátora (37). Korábbi szakirodalmi adatokkal összhangban (38), mind a PGC-1 α , mind pedig koaktivátorai és célpontjai (ERR β , NRF1, PPAR α , és CytC) esetében azok downregulálódását figyeltük meg, amely tükrözheti a patológias hipertrofiában megfigyelhető mitokondriális diszfunkciót és az energiafelhasználás zsírsavról glükózzra történő eltolódását (6. ábra D). A fiziológias hipertrofiában a szívizomsejtek változatlan vagy megnövekedett mitokondriális biogenezise jellemző (38). Eredményeink alapján nem volt megfigyelhető ezen gének upregulációja a sportszív úszómodelljében (6. D ábra). Ezen két hipertrofia modellünk közötti különbség mutathatja, hogy a mitokondriális biogenezis és funkció szabályozómolekuláinak gyógyszeres befolyásolása kulcsszerepet játszhat a patológias hipertrofia kezelésében.

Következtetések

Kutatócsoportunk elsőként mutatta be a fiziológias és kompenzált patológias szívizom-hipertrofia részletes hemodinamikai összehasonlítását releváns patkány modelleken. Bár a hipertrofia mértéke hasonló nagyságú volt a két modell esetében, jellegzetes különbségeket találtunk a korai diasztolés funkció tekintetében: az aktív relaxáció kedvezőbbnek bizonyult fiziológias hipertrofiában, míg annak markáns romlása volt megfigyelhető patológias szívizom-megnagyobbodásban. A BK-i mechanoenergetikai paraméterek (mechanikus hatásfok és ventrikulo-arteriális kapcsolat) javulást mutattak a fizikai edzéssel összefüggő szívizom-hipertrofia esetében, míg változatlanok maradtak a nyomás-túlterhelés indukálta patológias hipertrofiában. A mitokondriális funkciót és biogenezist jellemző miokardiális gének expressziós változása adhat magyarázatot ezen energiatülszóró funkcionális eltérések tekintetében.

A munkát támogatta a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NVKP_16-1-2016-0017), a Nemzeti Fejlesztési Ügynökség (TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0013), az Országos Tudományos Kutatási Alapprogram (OTKA 1055555) és a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndija (R.T.).

Irodalom

1. Bernardo BC, Weeks KL, Pretorius L, et al. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies. *Pharmacol Ther* 2010; 191–227. doi: 10.1016/j.pharmthera.2010.04.005
2. McMullen JR, Shioi T, Zhang L, et al. Phosphoinositide 3-kinase(p110alpha) plays a critical role for the induction of physiological, but not pathological, cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 12355–60. doi: 10.1073/pnas.1934654100
3. Ellison GM, Waring CD, Vicinanza C, et al. Physiological cardiac remodeling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms. *Heart* 2012; 5–10. doi: 10.1136/heartjnl-2011-300639
4. McMurray JJ, Pfeffer MA. Heart failure; *Lancet* 2005; 1877–89. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66621-4
5. Shephard RJ, Balady GJ. Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation* 1999; 963–72. doi: 10.1161/01.CIR.99.7.963
6. Thompson PD, Buchner D, Pina IL, et al. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation* 2003; 3109–16. doi: 10.1161/01.CIR.0000075572.40158.77
7. McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 255–62. doi: 10.1111/j.1440-1681.2007.04585.x
8. Iemitsu M, Miyauchi T, Maeda S, et al. Physiological and pathological cardiac hypertrophy induce different molecular phenotypes in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; R2029–36. doi: 10.1152/ajpregu.2001.281.6.R2029
9. Weeks KL, McMullen JR. The athlete's heart vs. the failing heart: can signaling explain the two distinct outcomes? *Physiology (Bethesda)* 2011; 97–105. doi: 10.1152/physiol.00043.2010
10. Derumeaux G, Mulder P, Richard V, et al. Tissue Doppler imaging differentiates physiological from pathological pressure-overload left ventricular hypertrophy in rats. *Circulation* 2002; 1602–8. doi: 10.1161/01.CIR.0000012943.91101.D7
11. D'Andrea A, D'Andrea L, Caso P, et al. The usefulness of Doppler myocardial imaging in the study of the athlete's heart and in the differential diagnosis between physiological and pathological ventricular hypertrophy. *Echocardiography* 2006; 149–57. doi: 10.1111/j.1540-8175.2006.00186.x
12. Hildick-Smith DJ, Shapiro LM. Echocardiographic differentiation of pathological and physiological left ventricular hypertrophy. *Heart* 2001; 615–9. doi: 10.1136/heart.85.6.615
13. Georgakopoulos D, Kass DA. Estimation of parallel conductance by dual-frequency conductance catheter in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; H443–50. doi: 10.1152/ajpheart.2000.279.1.H443
14. Radovits T, Olah A, Lux A, et al. Rat model of exercise-induced cardiac hypertrophy: hemodynamic characterization using left ventricular pressure-volume analysis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2013; H124–34. doi: 10.1152/ajpheart.00108.2013
15. Nemeth BT, Matyas C, Olah A, et al. Cinaciguat prevents the development of pathologic hypertrophy in a rat model of left ventricular pressure overload. *Sci Rep* 2016; 37166. doi: 10.1038/srep37166
16. Pacher P, Nagayama T, Mukhopadhyay P, et al. Measurement of cardiac function using pressure-volume conductance catheter technique in mice and rats. *Nat Protoc* 2008; 1422–34. doi: 10.1038/nprot.2008.138
17. Kass DA. Clinical ventricular pathophysiology: a pressure-volume view. In: *Wartler DC, editor. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995.*
18. Suga H. Cardiac energetics: from E(max) to pressure-volume area. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003; 580–5. doi: 10.1046/j.1440-1681.2003.03879.x
19. Sunagawa K, Maughan WL, Burkhoff D, et al. Left ventricular interaction with arterial load studied in isolated canine ventricle. *Am J Physiol* 1983; H773–80. doi: 10.1152/ajpheart.1983.245.5.H773
20. Frey N, Olson EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. *Annual Rev Physiol* 2003; 45–79. doi: 10.1146/annurev.physiol.65.092101.142243
21. Wang Y, Wisloff U, Kemi OJ. Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy. *Physiol Res* 2010; 633–44.
22. Wilkins BJ, Dai YS, Bueno OF, et al. Calcineurin/NFAT coupling participates in pathological, but not physiological, cardiac hypertrophy. *Circ Res* 2004; 110–8. doi: 10.1016/j.peptides.2010.04.026
23. Juric D, Wojciechowski P, Das DK, et al. Prevention of concentric hypertrophy and diastolic impairment in aortic-banded rats treated with resveratrol. *Am J Physiol; Heart Circ Physiol* 2007; H2138–43. doi: 10.1152/ajpheart.00852.2006
24. Scharhag J, Schneider G, Urhausen A, et al. Athlete's heart: right and left ventricular mass and function in male endurance athletes and untrained individuals determined by magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 2002; 1856–63. doi: 10.1016/S0735-1097(02)02478-6
25. Spirito P, Pelliccia A, Proschan MA, et al. Morphology of the "athlete's heart" assessed by echocardiography in 947 elite athletes representing 27 sports. *Am J Cardiol* 1994; 802–6. doi: 10.1016/0002-9149(94)90439-1
26. Kompa AR, Wang BH, Phrommintikul A, et al. Chronic urotensin II receptor antagonist treatment does not alter hypertrophy or fibrosis in a rat model of pressure-overload hypertrophy. *Peptides* 2010; 1523–30. doi: 10.1016/j.peptides.2010.04.026
27. Moens AL, Takimoto E, Tocchetti CG, et al. Reversal of cardiac hypertrophy and fibrosis from pressure overload by tetrahydrobiopterin: efficacy of recoupling nitric oxide synthase as a therapeutic strategy. *Circulation* 2008; 2626–36. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.737031
28. Cingolani OH, Kass DA. Pressure-volume relation analysis of mouse ventricular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; H2198–206. doi: 10.1152/ajpheart.00781.2011
29. Chen H, Hwang H, McKee LA, et al. Temporal and morphological impact of pressure overload in transgenic FHC mice. *Front Physiol* 2013; 205. doi: 10.3389/fphys.2013.00205
30. Takimoto E, Champion HC, Li M, et al. Oxidant stress from nitric oxide synthase-3 uncoupling stimulates cardiac pathologic remodeling from chronic pressure load. *J Clin Invest* 2005; 1221–31. doi: 10.1172/JCI21968
31. Zhao W, Choi JH, Hong GR, et al. Left ventricular relaxation. *Heart Fail Clin* 2008; 37–46. doi: 10.1016/j.hfc.2007.12.001
32. Caselli S, Maron MS, Urbano-Moral JA, et al. Differentiating left ventricular hypertrophy in athletes from that in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2014; 1383–9. doi: 10.1016/j.amjcard.2014.07.070
33. Kovacs A, Apor A, Nagy A, et al. Left ventricular untwisting in athlete's heart: key role in early diastolic filling? *Int J Sports Med* 2014; 259–64. doi: 10.1055/s-0033-1349076
34. Suga H, Hayashi T, Shirahata M. Ventricular systolic pressure-volume area as predictor of cardiac oxygen consumption. *Am J Physiol* 1981; H39–44. doi: 10.1152/ajpheart.1981.240.1.H39
35. Florescu M, Stoicescu C, Magda S, et al. "Supranormal" cardiac function in athletes related to better arterial and endothelial function. *Echocardiography* 2010; 659–67. doi: 10.1111/j.1540-8175.2009.01121.x
36. Nitenberg A, Loiseau A, Antony I. Left ventricular mechanical efficiency in hypertensive patients with and without increased myocardial mass and with normal pump function. *Am J Hypertens* 2001; 1231–8. doi: 10.1016/S0895-7061(01)02205-1
37. Finck BN, Kelly DP. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1) regulatory cascade in cardiac physiology and disease. *Circulation* 2007; 2540–8. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.670588
38. Rimbaud S, Garnier A, Ventura-Clapier R. Mitochondrial biogenesis in cardiac pathophysiology. *Pharmacol Rep* 2009; 131–8. doi: 10.1016/S1734-1140(09)70015-5