

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

Levelezési cím: Dr. Oláh Attila PhD, kardiológus szakorvosjelölt, Kísérleti Kutatólaboratórium, Semmelweis Egyetem 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 a 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 verőterefogatot találtunk, ezzel szemben PH-ban emelkedett végszisztolés nyomás mellett változatlan verőterefogatot 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. *Megosztott elsőszörzők.

Bevezetés

Szívizom-hipertrófia alatt a cardiomyocyták megnövekedéséből adódó szívtömeg-gyarapodást értjük, amely a szívet érő megemelkedett terhelésre adott válasz során fejlődik ki. A patológiás és fiziológiás szívizom-hipertrófiát eltérő fiziológiás és patológiás ingerek alakíthatják ki, amelyek különböző strukturális és molekuláris fenotípussal társulnak (1).

Amennyiben a nyomás- vagy térfogat-túlterhelést betegség váltja ki (pl. magas vérnyomás, billentyűbetegség), patológiás szívizom-hipertrófia alakul ki, amely kezdetben a megnövekedett biomechanikai stresszt kompenzáló jelenségnek tekinthető és a kardiovaszkuláris funkció fenntartását célozza kóros körülmények között (2). A patológiás hipertrófia cardiomyocyta vesztéssel (apoptózis, nekrosis), intersticiális fibrózissal, és a főtális 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 halálok egyiké. Ezen nagyméretű egészségügyi probléma számos kutatást inspirált, amelyek újfajta gyógyszeres támadáspont azonosítását célozták annak érdekében, hogy megelőzhető vagy visszafordítható legyen a patológiás szívizom-hipertrófia kialakulása (4).

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

A morfológiai hasonlósága ellenére a patológiás és fiziológiás szívizom-hipertrófia 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 szív-megnagyobbodás közötti funkcionális különbségek kevésbé feltártak. Mindeztől a fiziológiás és patológiás balkamra (BK) -hipertrófia 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 hipertrófia 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 leg-

átfogóbb 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 (fiziológiás), illetve nyomás-túlterheléssel (patológiás) kiváltott BK-hipertrófia esetén, BK-i P-V-analízis segítségével két széles körben használt patkánymodellen és vizsgáljuk a különbségek hátterében 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: fiziológiás szívizom-hipertrófia 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 patológiás szívizom-hipertrófia modell

A hasi aorta szűkítésével (AB, $n=10$) a bal kamra fokozott utóterhelést váltottuk ki. A műteti 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 sebési fonál alkalmazásával a tű méretére szűkítettük. A tű óvatos eltávolításával kapott ligatúrák így a bal kamra hasonló mértékben növekedett utóterhelését hozták létre az állatokban. Az áloperált (Sham, $n=8$) állatok hasonló műteti eljárás 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). Transthoracalis 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 végszisztolés (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 mikrokatótért (SPR-838, Millar Instruments, USA) vezettünk a felszálló aortába, ahol stabilizáció után artériás középnyomást (MAP) mértünk. A katótért a bal kamrába továbbvezetve regisztráltuk a bal kamrai nyomás- és térfogatviszonyokat és kiszámítottuk a következő hemodinamikai paramétereket: bal kamrai végszisztolés 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 végszisztolés 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 végszisztolés 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) hematoxin-eozin (HE) és picrosirius vörös festése után fénymikroszkóppal vizsgáltuk a szöveti szerkezetet. A HE festett metszeten állatonként 100 db hosszmetsetben elhelyezkedő, véletlenszerűen kiválasztott cardiomyocita sejtmagján áthaladó harántátmérőjét mértük, majd az értékeket állatonként átlagoltuk. A picrosirius vörös festés esetében a szívizom kollagén tartalmát szoftver segítségével kvantifikáltuk.

Kvantitatív valós idejű láncreakció (qRT-PCR)

A konzervált szívizomszövet mintákból RNS-t izoláltunk, majd reverz transzkripciót végeztünk kereskedelembe 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), tumor-nekrózis-faktor- α (TNF α), és transzformáló növekedési faktor- β , (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. Adatinkat a gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH) expressziójára normalizáltuk.

Statisztikai elemzés

Minden adatot átlag $\pm$ SEM formájában adtunk 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

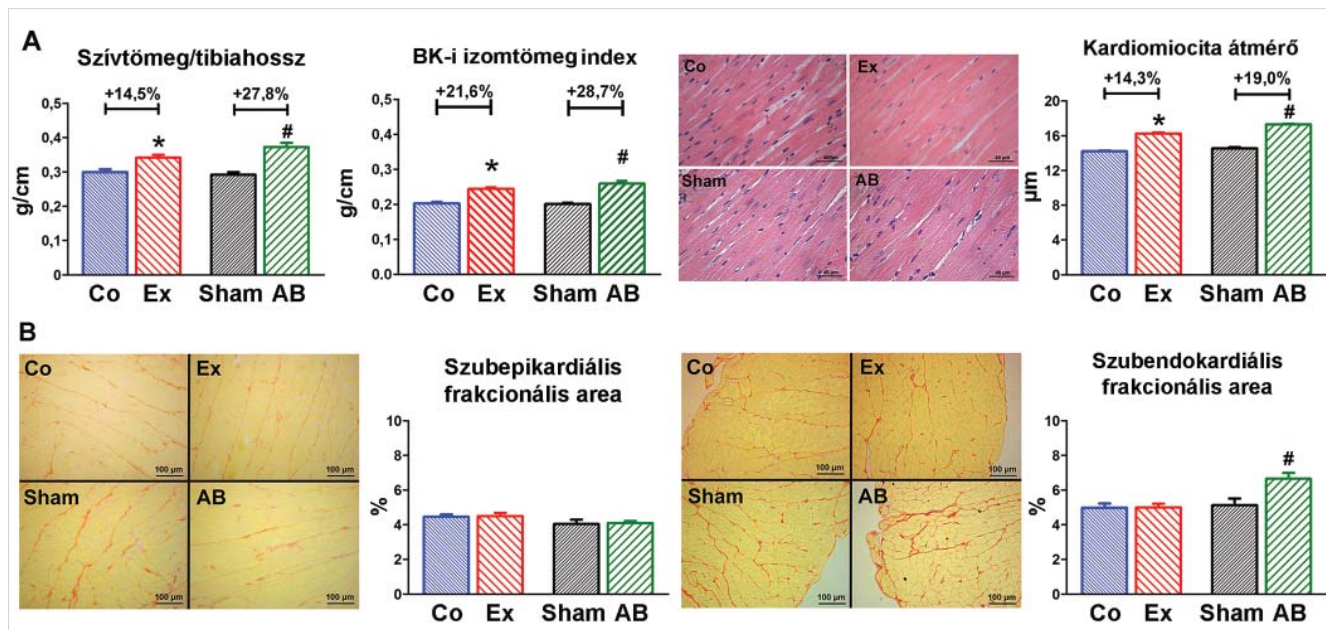
Testtömeg- és szívtömeg-adatok

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

a fiziológiás és patológiás 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: picosirius vörös festéssel (ahol a vörös festődésű területek a kollagén rostokat mutatják) változatlan kollagénsűrűséget detektáltunk fiziológiás hipertrofiában. Ezzel szemben patológiás 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

	Fiziológiás hipertrofia			Patológiás 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
LVESD (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 végszisztolában (index: s) és végdiasztolában (index: d); FS: frakcionális rövidülés; LV-mass: bal kamrai izomtömeg; LV-mass index (tibiahosszra normalizált LV-mass) bal kamrai végdiasztolés (LVEDD) és végszisztolés (LVESD) átmérők; SV: FS: frakcionális rövidülés; EF: ejekciós frakció

változatlan maradt, addig az LVESD csökkent fiziológiás hipertrofiában. Patológiás hipertrofia 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 hipertrofiás csoportban markánsan emelkedett LV-mass és LV-mass index értékeket találtunk, amely hasonló fokú BK-i hipertrofiát 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 figyeeltük meg. Az AB-patkányokban a hurkok enyhe fokú jobbrtolódását és jelentősen emelkedett vég-szisztolés 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 nyomástúlterhelés okozta patológiás hipertrofia 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 fiziológiás hipertrofiában, azonban patológiás 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 hipertrofiában (3. és 4. ábra). Emellett ezen paraméterek pozitív lineáris összefüggést mutattak az LV-mass értékekkel valamennyi állat adatait figyelembe véve (3. ábra).

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

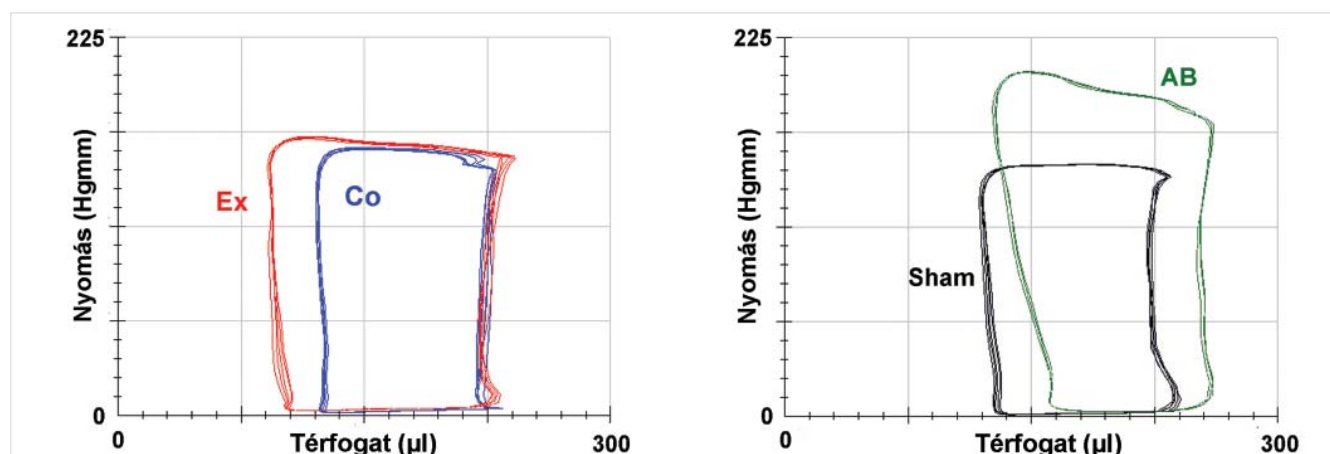
A mechanoenergetikát illetően eredményeink az SW megnövekedését mutatták mindkét modellben. A PVA azonban csak a patológiás hipertrofiában emelkedett meg (5. ábra). Ebből adódóan a BK-i funkció mechanikus hatásfoka javult a fiziológiás, míg változatlan maradt a patológiás szívizom-megnagyobbodás modelljében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

Szövettan

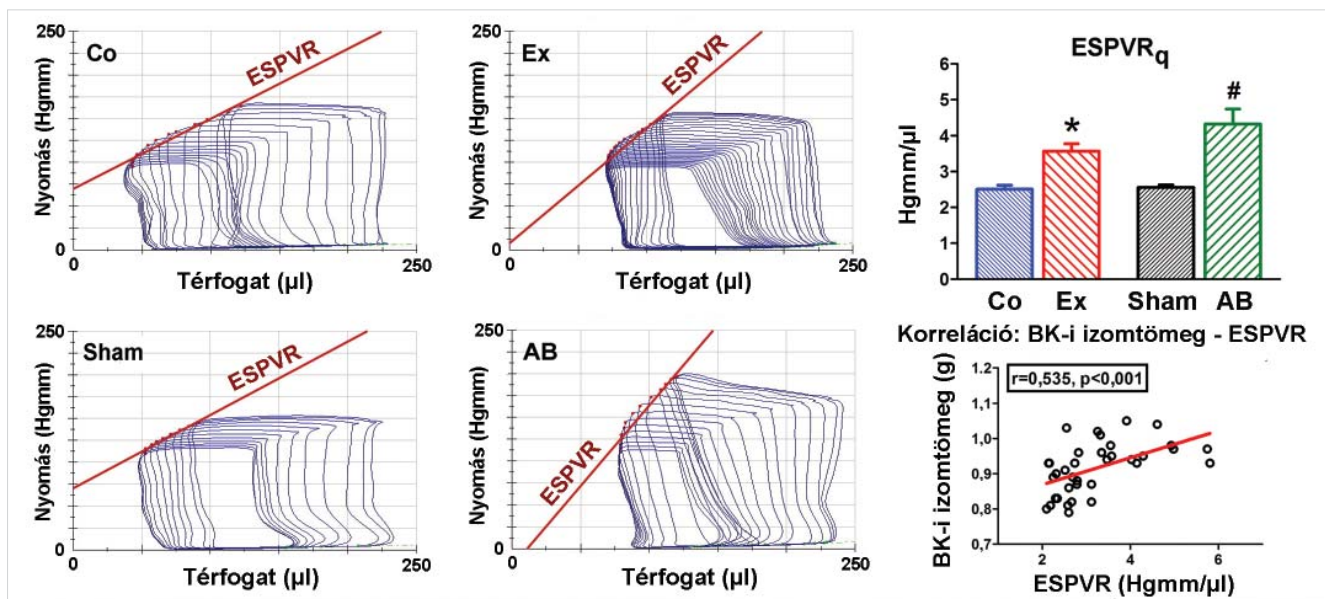
Megnövekedett cardiomyocita átmérőt találtunk az úszó és aortaszűkített csoportokban a kontrollokhoz képest (1. A ábra). A picrosirius vörös festés nem mutatott kollagénlerakódást az úszó állatok myocardiumában. Ezzel szemben patológiás hipertrofiában szubendokardiálisan (de nem szubepikardiálisan) emelkedett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

Génexpresszió

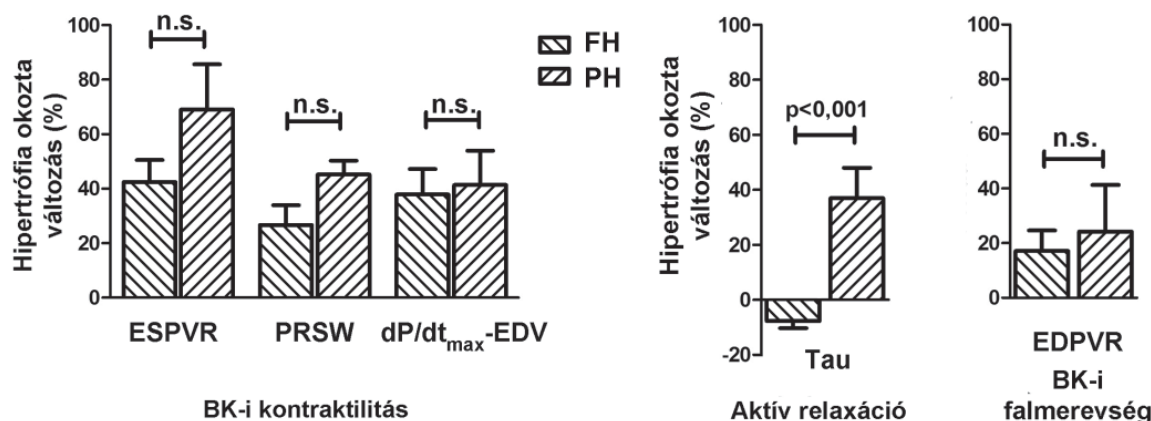
Az ANF és β MHC miokardiális génexpressziója markáns növekedést mutatott, míg az α MHC csökkent (ennek eredményeképpen csökkent az α MHC/



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 nyomástúlterheléssel összefüggő patológiás hipertrofiában 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 fiziológiás és patológiás 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 verőmunka – 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 fiziológiás és patológiás szívizom-hipertrofia esetén. Az érzékeny BK-i kontraktilitás-paraméterek, mint a végszisztolés nyomás-térfogat-összefüggés meredeksége (ESPVR), a verőmunka – 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 fiziológiás (FH) és patológiás (PH) hipertrofia esetén. A diasztolés kezdetét, vagyis a BK-i relaxációt terheléstől függetlenül jellemző marker, a Tau (τ) esetében markáns különbség adódott. A fiziológiás hipertrofiában megfigyelhető javult diasztolés funkcióra utal a csökkent τ, míg patológiás 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. n.s., nem szignifikáns

2. TÁBLÁZAT: Hemodinamikai adatok

	Fiziológias hipertrofia			Patológias hipertrofia		
	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
LVEBP, 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

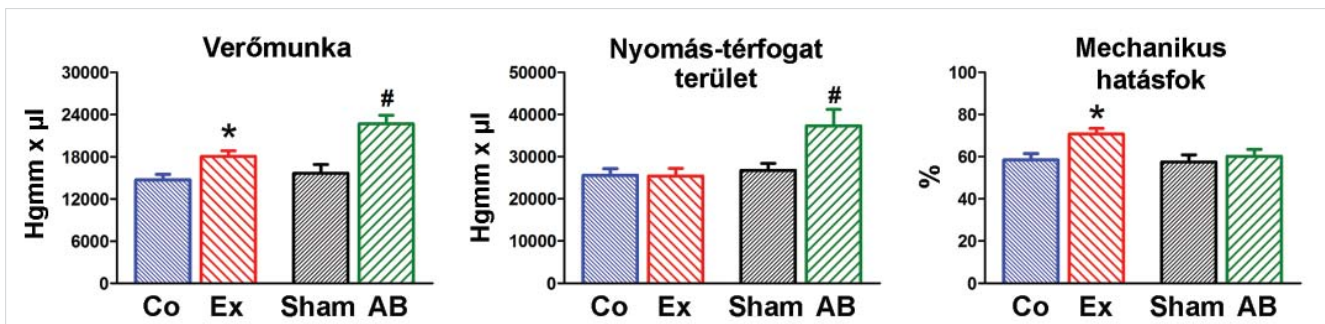
Az értékeket átlag±szórás formában tüntettük fel. MAP: artériás középnyomás; LVEBP és LVEDP: bal kamrai végszisztolés, illetve végdiasztolés nyomás; LVEDV és LVESV: bal kamrai végdiasztolés, illetve végszisztolés térfogat; SV: verővolumen; CO: percérték; CI: szívindex; EF: ejekciós frakció; SW: bal kamrai verőmunka; 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 verőmunka-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 kapcsolat; E_{ir}: mechanikus hatások

βMHC arány) patológias hipertrofiában. Ezen patológias hipertrofiamarkerek expressziója úszókban nem különbözött a kontrollokhoz képest (6. A ábra). Az antioxidáns és gyulladásos 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 hipertrofiában. Ezzel szemben ezen gének expressziója csökkent pa-

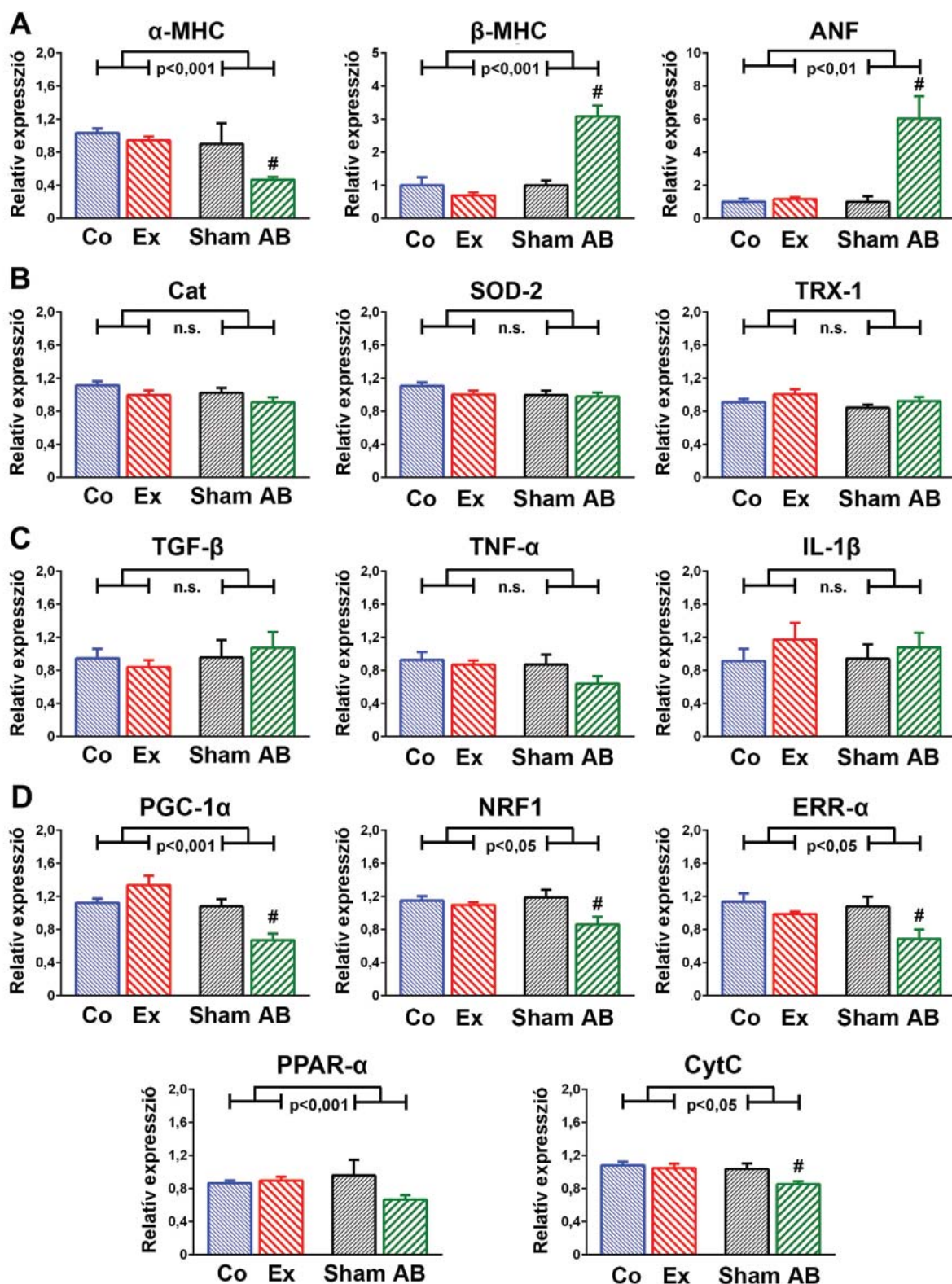
tológias szívizom-megnagyobbításban, amely jellegzetes különbség a két hipertrofia típus között (6. D ábra).

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 hipertrofiában a kontrollokhoz képest. Következésképpen a BK mechanikus hatásfoka javult a fiziológias, míg változatlan maradt a patológias szívizom-megnagyobbítás modelljében. Az értékeket átlag±szórás formában tüntettük fel. Co: kontroll, Ex: edzett, Sham: áloperált, AB: aortaszűkített csoport



6. ÁBRA. Miokardiális génextpresszió. 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 (SOD_2), és tioredoxin-1 (TRX1); gyulladásos markerek: interleukin- 1β (IL- 1β), tumor nekrozis-faktor- α (TNF α), és transzformáló növekedési faktor- β (TGF β); továbbá mitokondriális markerek: 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 citokró-m-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

ás BK-i hipertrofiáról nyomás–térfogat analízis segítségével, releváns kisállatmodelleken.

A szívizom-hipertrofia a myocardium válasza olyan külső ingerekre, amelyek megnövekedett biomechanikai stresszt váltanak ki. A szívizomsejtek méretének megnövekedése, a fokozott fehérjeszintézis, és a szarkomerek magasabb fokú szerveződése olyan morfológiai változásokat eredményeznek, amelyek a hipertrofiás fenotípus kialakulását eredményezik (20). Eredményeink alapján mind az aortaszűkítés, mind az intenzív úszóedzés a BK-i falvastagság szignifikáns növekedéséhez, koncentrikus BK-hipertrofiához vezetett (1. táblázat). Habár úszóedzés hatására sportolókban a BK dilatációja volt megfigyelhető (25), patkányainkban a végdiasztolés dimenzió változatlanul bizonyult, amelyet magyarázhat a rágcslók és az ember közötti jelentős szívfrekvencia-különbség, vagy a mérések során alkalmazott anesztézia befolyásoló hatása is. A BK-i izomtömegindex rámutatott arra, hogy a BK-hipertrofia mértéke hasonlóan adódott a két modellben, valamint összehasonlítható mértékű korábbi kutatási eredményeinkkel (14) és más tanulmányban leírtakkal (2, 21, 22). A BK-i szívizomsejtek átmérőjének értékei szövettani kiértékelése során alátámasztották a BK-hipertrofia jelenlétét mindkét modellben (1. ábra). A változatlan BK-dimenziók, valamint FS- és EF-értékek rávilágítottak arra, hogy AB-patkányok esetében nem volt jelen patológiás hipertrofiához társuló tágulás, amely összefügg korábbi aortaszűkítéssel foglalkozó tanulmányok eredményeivel (1. táblázat) (10, 23).

A kollagén állományának megnövekedése 6 hét aortaszűkítés elteltével csak a subendocardiumra lokalizáltan volt megfigyelhető (1. B ábra). Ez összhangban áll egy hasonló modellen végzett vizsgálattal, amely szubendokardiális kollagén-lerakódást igazolt 2 hónapos krónikus nyomástúlerhelés mellett (10). A hosszú távú fizikai edzés esetén hiányzó kötőszöveti átépülés a BK-hipertrofia fiziológiás természetét támasztja alá (22).

Az edzéshez társuló szívizom-megnagyobbodással ellentétben a patológiás hipertrofia a miokardiális főtálcis génprogram reaktivációjával jár (20). A széles körben vizsgált patológiás hipertrofia marker α MHC, β MHC és ANF miokardiális génexpressziója tisztán demonstrálta a BK-hipertrofia fiziológiás, illetve patológiás természetét az Ex- és AB-patkányok esetében (6. A ábra) (2, 8). A patológiás hipertrofia szívelégtelenségbe történő progressziója megnövekedett miokardiális oxidatív stresszel és gyulladással társul (1). A hasi aortaszűkítést követő 6. héten megfigyelt endogén antioxidánsok és gyulladáscitokinek változatlan miokardiális expressziója utalhat arra, hogy az intenzív oxidatív stressz és a következményes gyulladáscitokinek válasza ezen kompenzált fázisra nem jellemző (6. B, C ábra). Az oxidatív stressz és gyulladáscitokinek válasza ezen kompenzált fázisra nem jellemző (6. B, C ábra). Az oxidatív stressz és gyulladáscitokinek válasza ezen kompenzált fázisra nem jellemző (6. B, C ábra).

A 2. ábra világosan szemlélteti, hogy az úszó állatok

esetében – hasonló bal kamrai nyomás és frekvencia mellett – változatlan végdiasztolés, illetve csökkent végzsisztolés dimenziókat figyeltünk meg, amely által emelkedett verőtérfogat mutatkozott, amely összhangban áll sportolókon végzett noninvaszív mérések eredményeivel (2. ábra és 2. táblázat) (24, 25).

A 2. táblázat mutatja, hogy a hasi aortaszűkítés hatására jelentős mértékben emelkedett a BK-i végzsisztolés nyomás, amely növekedés összemérhető a korábban megfigyeltekkel kisállat-modellek esetén (2, 26). A nyugalmi BK-i P–V-hurkok enyhe jobbrtolódást mutattak, amely változást korábban is kimutatták a nyomás túlterhelés hatására kifejlődő szívizom-megnagyobbodás esetén (27). Azonban számottevő tágulást nem detektáltunk, ami a patológiás hipertrofia kompenzált stádiumára utal.

A szisztolés funkció konvencionális paraméterei, a szívultrahanggal meghatározott BK-i FS és EF, illetve P–V-analízissel mért EF-emelkedést mutattak a sportoló állatokban, amely a megnövekedett BK-i szisztolés teljesítményre utal fiziológiás hipertrofia esetében (2. táblázat). Ezen paraméterek változatlanok voltak a 6 hetes nyomástúlerhelést követően, utalva a megtartott szisztolés funkcióra, amely adataink összhangban állnak egy korábbi tanulmány eredményeivel (10). A BK-i szisztolés funkció másik hagyományos, ugyanakkor elő- és utóterheléstől függő paramétere, a szisztolés nyomásnövekedés maximális sebessége (dP/dt_{max}) (28). Következésképpen a sportoló állatoknál megfigyelhető potenciális előterhelés-változás és az AB-patkányokra jellemző nagymértékű BK-i utóterhelés ezen paramétert megbízhatatlanná teszi.

A BK-i kontraktilitás precízen meghatározható P–V-analízis segítségével. A P–V-összefüggések rögzítése tranziens, előterhelést csökkentő manőver (vena cava inferior okklúzió) során lehetőséget teremt a töltéstől független BK-i kontraktilitás paraméterek kiszámítására (17). A leginkább elterjedt ilyen érzékeny kontraktilitásiindex az ESPVR, amely mind az úszó, mind az AB-csoportban megnövekedett (3. ábra). Ugyanezt tapasztaltuk a PRSW és dP/dt_{max} -EDV esetén is, amely egyértelműen emelkedett kontraktilitásra utal mindkét modellben. Ezen adataink összhangban állnak a fiziológiás hipertrofiát vizsgáló előző tanulmányunk (14), illetve korábbi nyomástúlerhelés következtében létrejövő patológiás hipertrofiát elemző kutatások eredményeivel (29, 30). A kontraktilitás változása szempontjából nem volt szignifikáns különbség a két hipertrofia modell között (4. ábra). Mindemellett a kontraktilitás (ESPVR) összefüggést mutatott a BK-i hipertrofia mértékével (amit a BK-i izomtömeg képvisel). Ez alátámasztja azt a nézetet, hogy a BK-hipertrofia egy adaptív válasz, amely perctérfogat fenntartását célozza a megnövekedett biomechanikai stresszel szemben, legyen a kiváltó inger fiziológiás vagy patológiás (20).

A kamrai ciklus diasztolés fázisának két fő komponense jellemezhető P–V-analízis segítségével: az aktív re-

laxáció és a bal kamra falmerevsége. A BK-i relaxáció egy aktív, energiafüggő mechanizmusnak tekinthető, amely leginkább a szarkoplazmás retikulumnak a korai diasztolés során történő kalciumion újrafelvételétől függ (31). A BK-i nyomáscsökkenés időkonstansa (τ) a BK-i aktív relaxáció előterheléstől viszonylag független jellemzője (31). Fiziológiás 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 patológiás 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 fiziológiás hipertrofia esetében a kontrollállatokkal megegyező energiafelhasználást figyeltünk meg, addig patológiás hipertrofiában annak értéke emelkedett volt (5. ábra). Ennek eredményeképpen a BK-teljesítmény mechanikus hatásfoka emelkedést mutatott sportszív esetében, míg patológiás szívizom-hipertrofia esetében változatlan maradt (5. ábra). Eredményeink utalhatnak a már korábban leírt metabolikus különbségekre a szívizom fiziológiás és patológiás állapotai között: az edzés következtében mind a glükóz- és zsírsavoxidáció mértéke megemelkedik, ezzel szemben patológiás 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-artériális 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, energiafüggő 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 patológiás hipertrofiában megfigyelhető mitokondriális diszfunkciót és az energiafelhasználás zsírsavról glükózra történő eltolódását (6. ábra D). A fiziológiás 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 patológiás hipertrofia kezelésében.

Következtetések

Kutatócsoportunk elsőként mutatta be a fiziológiás és kompenzált patológiás 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 fiziológiás hipertrofiában, míg annak markáns romlása volt megfigyelhető patológiás szívizom-megnagyobbodásban. A BK-i mechanoenergetikai paraméterek (mechanikus hatásfok és ventrikulo-artériális kapcsolat) javulást mutattak a fizikai edzéssel összefüggő szívizom-hipertrofia esetében, míg változatlanok maradtak a nyomás-túlterhelés indukálta patológiás hipertrofiában. A mitokondriális funkciót és biogenezist jellemző miokardiális gének expressziós változása adhat magyarázatot ezen energiafüggő funkcionális eltérések tekintetében.

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.

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.
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.
4. McMurray JJ, Pfeffer MA. Heart failure; *Lancet* 2005; 1877–89.
5. Shephard RJ, Balady GJ. Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation* 1999; 963–72.
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.
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.
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.
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.
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.
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.
12. Hildick-Smith DJ, Shapiro LM. Echocardiographic differentiation of pathological and physiological left ventricular hypertrophy. *Heart* 2001; 615–9.
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.
14. Radovits T, Oláh 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.
15. Nemeth BT, Matyas C, Oláh A, et al. Cinaciguat prevents the development of pathologic hypertrophy in a rat model of left ventricular pressure overload. *Sci Rep* 2016; 37166.
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.
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.
19. Sunagawa K, Maughan WL, Burkoff D, et al. Left ventricular interaction with arterial load studied in isolated canine ventricle. *Am J Physiol* 1983; H773–80.
20. Frey N, Olson EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. *Annual Rev Physiol* 2003; 45–79.
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.
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.
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.
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.
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.
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.
28. Cingolani OH, Kass DA. Pressure-volume relation analysis of mouse ventricular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; H2198–206.
29. Chen H, Hwang H, McKee LA, et al. Temporal and morphological impact of pressure overload in transgenic FHC mice. *Front Physiol* 2013; 205.
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.
31. Zhao W, Choi JH, Hong GR, et al. Left ventricular relaxation. *Heart Fail Clin* 2008; 37–46.
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.
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.
34. Suga H, Hayashi T, Shirahata M. Ventricular systolic pressure-volume area as predictor of cardiac oxygen consumption. *Am J Physiol* 1981; H39–44.
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.
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.
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.