

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**Dr. Szekeres Réka Mária**

**Növényi eredetű bioaktív anyagok és a fizikai aktivitás  
szerepe a cardialis dysfunctio kezelésében**

**DEBRECENI EGYETEM**

**TÁPLÁLKOZÁS- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2025**

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**Növényi eredetű bioaktív anyagok és a fizikai  
aktivitás szerepe a cardialis dysfunctio kezelésében**

**Dr. Szekeres Réka Mária**

**Témavezető: Prof. Dr. Juhász Béla**



**DEBRECENI EGYETEM**

**TÁPLÁLKOZÁS- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2025**

# Tartalomjegyzék

Gyakran használt rövidítések jegyzéke .....	1
<b>1. Bevezetés .....</b>	<b>2</b>
<b>2. Irodalmi áttekintés .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Szívelégtelenség.....</b>	<b>3</b>
<b>2.2. Cardialis dysfunctio .....</b>	<b>5</b>
2.2.1. A dyslipidaemia és az atherosclerosis jelentősége .....	7
2.2.2. Az öregedés szerepe .....	11
<b>2.3. Echocardiographia .....</b>	<b>15</b>
<b>2.4. Meggy (Prunus cerasus L.).....</b>	<b>20</b>
<b>2.5. Testmozgás .....</b>	<b>22</b>
<b>3. Célkitűzések .....</b>	<b>25</b>
<b>4. Anyagok és módszerek .....</b>	<b>26</b>
<b>4.1. Etikai irányelvek .....</b>	<b>26</b>
<b>4.2. Kísérleti elrendezés.....</b>	<b>26</b>
4.2.1. Meggykivonat-kezelés hatásának vizsgálata HC nyúl modellen .....	26
4.2.2. Fizikai aktivitás hatásának vizsgálata idős patkány modellen .....	27
<b>4.3. Anthocyaninok.....</b>	<b>29</b>
<b>4.4. Echocardiographia .....</b>	<b>29</b>
<b>4.5. Szérum paraméterek meghatározása .....</b>	<b>30</b>
<b>4.6. Endothel-függő vasorelaxáció vizsgálata.....</b>	<b>31</b>
<b>4.7. Szövettan .....</b>	<b>32</b>
<b>4.8. Fehérje izolálás .....</b>	<b>32</b>
<b>4.9. Western blot .....</b>	<b>33</b>
<b>4.10. ATPS aktivitás mérés .....</b>	<b>34</b>
<b>4.11. Statisztikai analízis .....</b>	<b>34</b>
<b>5. Eredmények .....</b>	<b>35</b>
<b>5.1. Atherosclerotikus nyúl modell.....</b>	<b>35</b>
5.1.1. Szérum paraméterek .....	35
5.1.2. Echocardiographia.....	36
5.1.3. Endothel-függő vasorelaxáció .....	38
5.1.4. Szövetteni festés .....	38

5.1.5. Western blot.....	39
<b>5.2. „Aging” patkány modell .....</b>	<b>40</b>
5.2.1. Testsúlyváltozás.....	40
5.2.2. Szérum paraméterek .....	41
5.2.3. Echocardiographia.....	42
5.2.4. Szövettan .....	44
5.2.5. Western blot.....	45
5.2.6. ATPS aktivitás .....	47
<b>6. Megbeszélés.....</b>	<b>48</b>
<b>7. Összegzés – Summary .....</b>	<b>59</b>
<b>8. Az értekezés új megállapításai .....</b>	<b>60</b>
<b>9. Irodalomjegyzék .....</b>	<b>61</b>
<b>10. Tárgyszavak.....</b>	<b>77</b>
<b>11. Köszönetnyilvánítás.....</b>	<b>78</b>
<b>12. Függelék .....</b>	<b>79</b>

## Gyakran használt rövidítések jegyzéke

ATPS – ATP-synthase

Ca<sup>2+</sup> – calcium – kalcium

cGMP – cyclic guanosine monophosphate – ciklikus guanozin-monofoszfát

ECM – extracellular matrix – extracelluláris matrix

EDV – end diastolic volume – végdiastoles volumen

EF – ejection fraction – ejekciós frakció

eNOS – endothelial nitric oxide synthase – endothelialis nitrogen-monoxid synthase

ESV – end systolic volume – végsystoles volumen

FS – fractional shortening – frakcionált rövidülés

HC – hypercholesterinaemia

HDL – high density lipoprotein – magas sűrűségű lipoprotein

HO-1 – heme oxygenase-1

LAP – left atrial pressure – bal pitvari nyomás

LDL – low density lipoprotein – alacsony sűrűségű lipoprotein

LVOT – left ventricle outflow tract – bal kamrai kiáramlási traktus

MAPSE – mitral annular plane systolic excursion – mitrális anulus síkirányú systoles kitérése

NO – nitric oxide – nitrogen-monoxid

Opa1 – Optic atrophy 1

oxLDL – oxidized low density lipoprotein – oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein

PCE – Prunus cerasus extraktum (meggykivonat)

PKG – protein kinase G

PLN – phospholamban

ROS – reactive oxygen species – reaktív oxigén szabadgyökök

SERCA2a – sarco/endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase 2a – sarco/endoplasmaticus reticulum Ca<sup>2+</sup> ATP-áz 2a

STAT3 – signal transducer and activator of transcription 3 – jelátviteli és transzkripció aktivátor 3

TAPSE – tricuspid annular plane systolic excursion – tricuspídális anulus síkirányú systoles kitérése

# 1. Bevezetés

Az orvostudomány dinamikus fejlődése ellenére még mindig a szív- és érrendszeri megbetegedések a vezető halálokok nemzetközi szinten. Ami ezen kórállapotok etiológiáját illeti, a genetikailag öröklődő, ezáltal nem befolyásolható tényezőkön túl számos olyan secunder rizikófaktort ismerünk, amelyek jelentős mértékben visszaszoríthatók lennének. A mozgásszegény életmód, magasvérnyomás betegség, emelkedett vérzsírszint, cukorbetegség, dohányzás, valamint a túlzott mértékű alkoholfogyasztás az individuuum szintjén mérsékelhető kockázati tényezők. Korai felismerés esetén az életmódváltás, a káros szenvedélyek elhagyása, a rendszeres testmozgás bevezetése elegendőnek bizonyulhat, ám az előrehaladottabb állapotokban gyógyszeres kezelésre is szükség van. Az utóbbi években a cardiovascularis kutatások fókuszába került a természetes eredetű vegyületek, különösen a sötét színű bogyós gyümölcsökben nagy mennyiségben előforduló anthocyaninok hatásmechanizmusának vizsgálata, miután az eredmények rámutattak azok jelentős antioxidáns és gyulladáscsökkentő potenciáljára, mely alapján feltételezhető preventív és terápiás szerepük.

A gyógyszerkutatások fejlesztése nagymértékben hozzájárult a várható élettartam növekedéséhez, amely 2000-ben 66,2 év volt, ám 2024-re 73,3 évre nőtt. A napjainkban tapasztalható demográfiai öregedés hátterében nemcsak a halandóság csökkenése és az életesélyek javulása áll, hanem egyidejűleg a termékenység és ezáltal a születések számának mérséklődése is. Az emberek hosszabb élettartama és a halálozási arányok javulása csak egészségesen megélt időskor esetén tekinthető előrelépésnek. Az „egészséges öregedés” többdimenziós jelenség, amely nem csupán a klinikai betegségek hiányát jelenti, hanem magába foglalja a megmaradt kognitív, affektív és szociális funkciókat is. Számos bizonyíték utal arra, hogy a rendszeres testmozgás idősebb korban a jó egészség megőrzésének legfontosabb életmódbeli tényezői közé tartozik, hiszen kifejezett pozitív hatással van az erőnlétre, rugalmasságra, aerob kapacitásra, járóképességre, egyensúlyérzékre, valamint a mentális és kognitív hanyatlás lassítására.

A cardiovascularis vonatkozások tekintetében mind az egészségtelen életmód, mind az öregedés cardialis dysfunctiohoz, később pedig szívelégtelenséghez vezethetnek. Napjainkban a kutatások során az egyik legnagyobb kihívást az jelenti, hogy olyan természetes eredetű gyógymódokat azonosítsunk, amelyek szignifikáns preventív, illetve terápiás hatással rendelkeznek, így javítva az életminőséget és stabilizálva az egészségi állapotot. Ezen értekezés alapjául szolgáló kutatások eredményeivel reméljük, kutatócsoportunk is hozzájárulhat a cardialis dysfunctio kapcsán rendelkezésre álló ismeretanyag bővítéséhez.

## 2. Irodalmi áttekintés

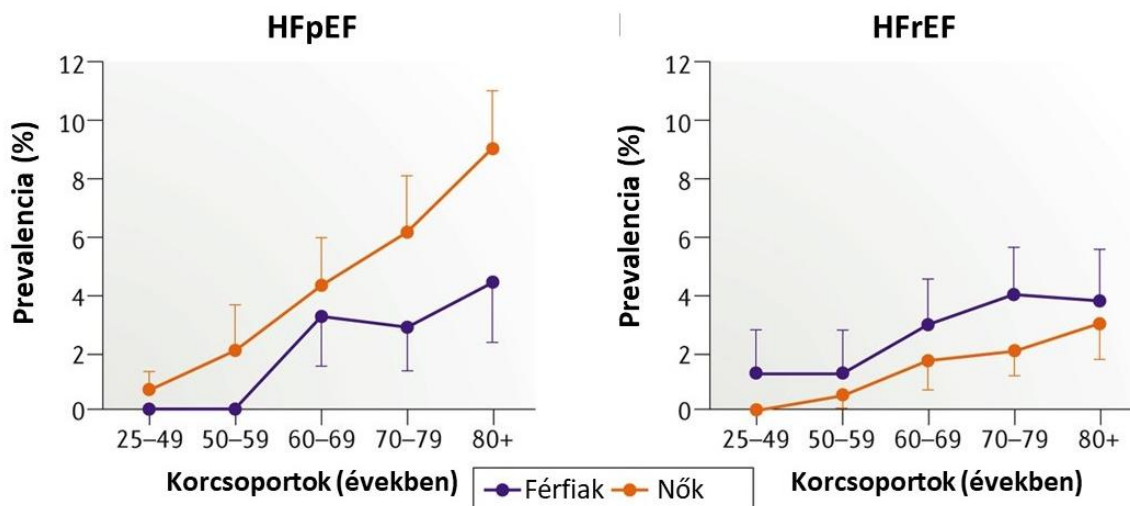
### 2.1. Szívelégtelenség

A szívelégtelenség világszerte több mint 60 millió főre becsült előfordulási gyakoriságával hatalmas globális egészségügyi terhet jelent, amely az életminőség romlásával, gyakori kórházi kezelésekkkel, növekvő egészségügyi költségekkel és a korai halálozás magas arányával jár együtt [1, 2]. Az öregedő társadalom és az új terápiás lehetőségek a túlélés szerény javulását teszik lehetővé, melynek következtében a kórkép prevalenciája 2030-ra várhatóan 46%-kal fog nőni [3].

A szívelégtelenség olyan összetett klinikai szindróma, amely a szívizom strukturális vagy funkcionális rendellenességei miatt alakul ki, elégtelen pumpafunkciót és/vagy emelkedett intracardialis nyomást eredményezve, nyugalomban és/vagy terhelés során [4]. A leggyakoribb kóroki tényezők közé tartozik az ischaemiás szívbetegség, a magas vérnyomás és a szívbillentyű-betegségek [5, 6]. Gyakran tapasztalható az a pathogenetikai sorrend, mely során a hipertónia koszorúér-betegséget eredményez, ami később acut myocardialis infarktus révén szívelégtelenséghez vezet. Egyéb rizikótényező a diabetes mellitus, a hyperlipidaemia, a dohányzás, továbbá az öregedés, a pitvarfibrillatio, az elhízás és a női nem a menopauzát követően [7-9].

A 2022-es American Heart Association / American College of Cardiology / Heart Failure Society of America (AHA/ACC/HFSA) iránymutatás a szívelégtelenség 4 típusát azonosítja a bal kamrai ejekciós frakció (EF) alapján [10]:

1. HFrEF (heart failure with reduced ejection fraction) - csökkent ejekciós frakcióval járó szívelégtelenség:  $EF \leq 40\%$
2. HFimpEF (heart failure with improved ejection fraction) - javuló ejekciós frakcióval járó szívelégtelenség: a kiindulási  $EF \leq 40\%$ , de az utánkövetés során  $\geq 10\%$ -os növekedés, valamint az  $EF > 40\%$  a kontroll vizsgálatokon
3. HFmrEF (heart failure with mildly reduced ejection fraction) - enyhén csökkent ejekciós frakcióval járó szívelégtelenség:  $41 \geq EF \leq 49$
4. HFpEF (heart failure with preserved ejection fraction) - megtartott ejekciós frakciójú szívelégtelenség:  $EF \geq 50\%$



1. ábra. A HFpEF és HFrEF előfordulása életkor és nem szerint. Adaptált forrás: [11].

A bal szívfelet érintő elégtelenség esetén a fáradékonyság és a gyengeség mellett a tüdőben fellépő pangás miatt dyspnoe, tachypnoe, valamint orthopnoe figyelhető meg, a tüdők felett szörtyzörejek hallhatók [12]. Pulmonalis funkciózavar és a periférián fokozott oxigénfelhasználás miatt cyanosis alakulhat ki. Az izolált jobb szívfél elégtelenség ritka (pl. COPD vagy pulmonalis embolia esetén), ám gyakoribb, hogy a bal szívfél elégtelensége során a vér visszafelé pang a jobb szívfélbe, ezért a nagyvérköri pangás jelei is megjelennek, úgymint a pangás a nyaki vénákban és a májban, illetve a lábháton és pretibialisan jelentkező oedema.

A fentebb részletezett klinikai tünetek részben a csökkent perctérfogat, részben a kompenzációs mechanizmusok következtében alakulnak ki. Az elmúlt évtizedek kutatásai egyértelmű összefüggést mutattak a neurohormonális aktiváció és a szívelégtelenség progressziója között, ezáltal e rendszerek farmakológiai antagonizmusa a szívelégtelenség korszerű gyógyszeres terápiájának alapjává vált [13]. A neuroendokrin aktiváció komponensei a szimpatikus idegrendszer, a renin-angiotensin-aldoszteron rendszer (RAAS), az antidiuretikus hormon (ADH, vasopressin) és a natriuretikus peptidok. A szimpatikus aktivitás kezdeti fokozódása következtében megnő a noradrenalin (NA) szintje, amely pozitív chronotrop és inotrop hatásokat gyakorol, ezzel segítve a pumpafunkció fenntartását. Továbbá, a NA az arteriolák tónusának emelésével növeli az afterloadot, emellett a vénás tónus fokozásával a végdiastoles térfogatot is, majd az így emelkedő preload a Frank-Starling mechanizmus értelmében fokozza a kontrakciós erőt (bizonyos határok között). A plazma NA koncentrációjának emelkedése a szimpatikus aktivitás fokozódását tükrözi, amely szoros korrelációt mutat a prognózis romlásával [14]. Amennyiben a szimpatikus működés krónikussá

válí, az a szív  $\beta$ -receptorainak downregulációját idézi elő, amely a cAMP–PKA jelátviteli útvonal aktivitásának csökkenéséhez vezet [15]. Ennek következményeként mérséklődik több kulcsfontosságú PKA-célfehérje, köztük az L-típusú  $\text{Ca}^{2+}$ -csatornák, a phospholamban (PLN), a troponin I, a myosin binding protein C (MyBP-C) és a titin foszforilációja [16]. A jelátviteli zavarok együttesen a  $\text{Ca}^{2+}$ -homeostasis felborulását, a sarcomerfunkció romlását és a szívizom kontraktilis, illetve relaxációs kapacitásának progresszív hanyatlását idézik elő.

Ezen mechanizmusok mellett kulcsfontosságú a renin-angiotensin-aldosteron rendszer (RAAS) aktiválódása. A renin a vese juxtaglomeruláris sejtjeiben a szimpatikus aktivitásfokozódás hatására termelődő proteolitikus hatású enzim, melynek feladata a máj által szintetizált angiotensinogen hasítása angiotensin I molekulává. Az angiotensin I  $\rightarrow$  angiotensin II átalakulást az angiotensin-convertáló enzim (ACE) katalizálja. Az így keletkezett angiotensin II felelős számos kóros eltérés kialakulásáért: vasoconstrictor hatása révén növeli az afterloadot, miközben közvetlenül hat a szívizomra, cardiomyocytá hypertrophiát, interstitialis fibrosist, ezáltal „cardialis remodelling”-et (szívizom-átépülést) okozva [17]. Érdekesség, hogy rágcsálók esetében az angiotensin II infúzió adása jól bevált módszer a myocardialis fibrosis serkentésére *in vivo* [18]. Végül, az aldosteron termelődése jelentősen növeli a szervezet nátrium- és vízvisszatartását, míg az antidiuretikus hormon (ADH) a vesék gyűjtőcsatornáiban a víz reabszorpciójának fokozásával emeli a preloadot. A neuroendokrin aktiváció részeként, válaszul a pitvari (ANP) és kamrai (BNP) tágulatra, natriuretikus peptidek szabadulnak fel, amelyek – az előzőekkel ellentétben – perifériás értágulatot, valamint fokozott nátrium- és vízkiválasztást idéznek elő [19]. Mindemellett az ANP és a BNP gátolja a renin és az aldosteron termelődését, továbbá mérsékli a „cardialis remodelling”-et [20]. Szívelégtelenségben a natriuretikus peptidekkel szemben perifériás rezisztencia alakul ki, amely hozzájárul a haemodinamikai instabilitás fokozódásához és a szív funkcionális teljesítményének további romlásához.

## 2.2. Cardialis dysfunctio

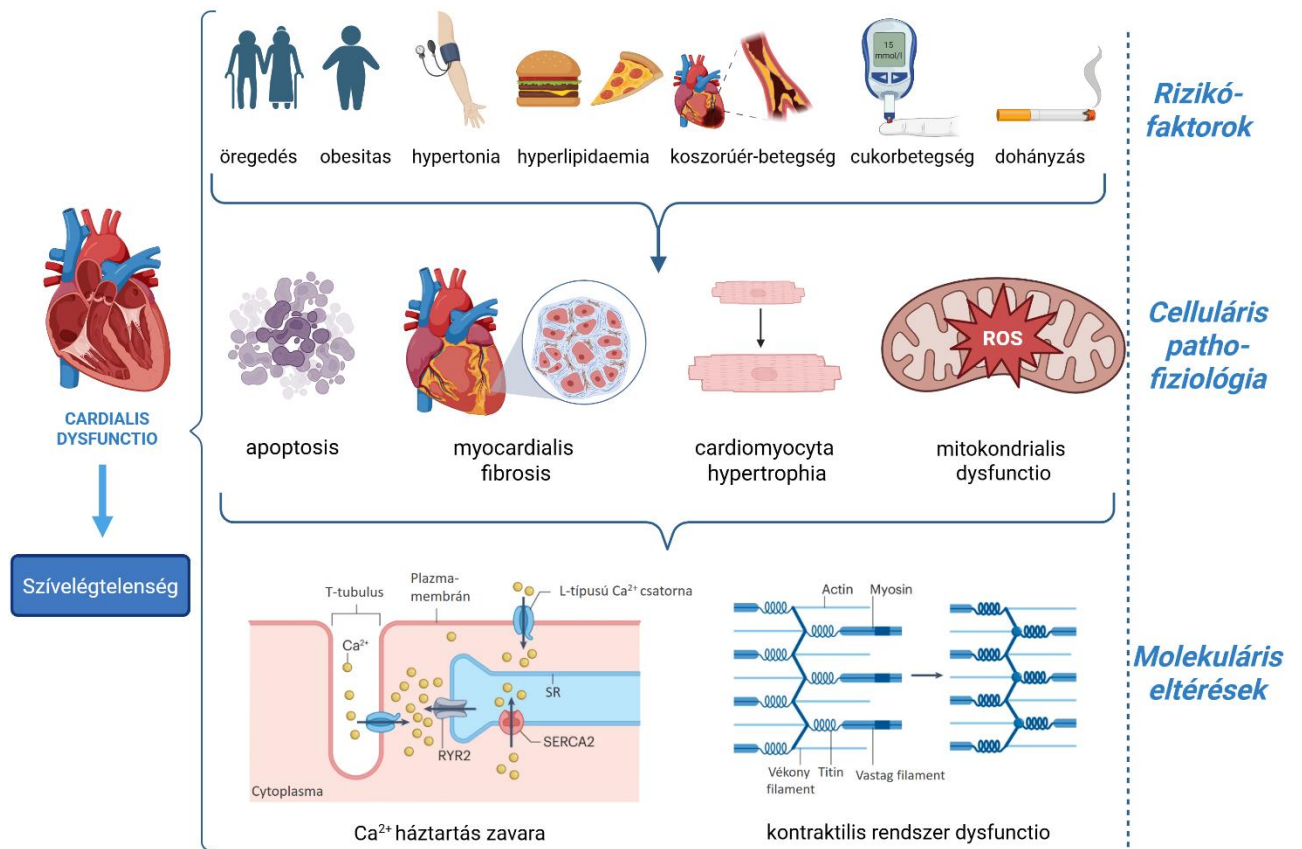
A tünetekkel járó szívelégtelenség prekurzoraként a myocardiumban olyan strukturális, illetve funkcionális változások figyelhetők meg, amelyek cardialis dysfunctio kialakulásához vezetnek (2. ábra). Az olyan krónikus stresszhatást kiváltó rizikótényezők, mint pl. az öregedés, a diabetes mellitus és a hypertonia kedvezőtlen morfo-funkcionális átalakulásokat provokálnak, úgymint a patológiás cardiomyocytá hypertrophia és apoptosis, valamint a myofibroblastok proliferációja és a következményes interstitialis fibrosis [21].

A cardiomyocita hypertrophia a szívizom egyik legfontosabb válaszreakciója a haemodinamikai terhelésre, külső sérülésre vagy egyéb káros stimulusra. A kompenzációs mechanizmusok aktivációja kezdetben kedvezően befolyásolhatja a cardiomyocyták proliferációját, angiogenezist és mitokondriális biogenezist, azonban a fenntartott stimuláció maladaptív hypertrophia kialakulásához vezet. Ezt a folyamatot számos sejten belüli jelátviteli útvonal szabályozza, melyek közül kiemelkedő szerepe van a foszfatidylinositol-3-kinase (PI3K)/Akt, valamint a mitogén-aktivált protein kinase (MAPK) útvonalaknak. Az Akt (más néven protein kinase B) rövid távon elősegíti a szívizomsejtek fiziológiás növekedését, de a tartós aktiválódás patológiás hypertrophiához vezet [22]. A neurohumorális aktiváció következtében termelődő angiotensin II hatásait az endothelin-1 (ET-1) és a transzformáló növekedési faktor-beta (TGF- $\beta$ ) közvetíti, melyek erőteljes pro-hypertrophiás és pro-fibrotikus hatásokat fejtenek ki [23, 24]. A mitogén-aktivált protein kinázok (MAPK) – beleértve a p38, ERK1/2 és JNK kaszkádokat – szintén meghatározó szerepet játszanak a remodelling folyamatában, hiszen a myocardialis fibrosis és hypertrophia modulálásával hozzájárulnak a szívelégtelenség pathogeneziséhez. Ezzel szemben ezen útvonalak gátlása *in vitro* és *in vivo* modellekben csökkenti az oxidatív stresszt, valamint mérsékli a reaktív oxigén szabadgyökök (ROS) által kiváltott szövetkárosodást [25]. A molekuláris változások mellett megfigyelhető a sejteken belül a  $Ca^{2+}$  homeostasis zavara és a ROS termelődésének fokozódása, amely mitokondriális dysfunctiohoz és sejthalálhoz vezet [26].

A fibrosis, mint a patológiás remodelling kritikus tényezője, kamrai merevséget idéz elő a szív interstitialis struktúráiban felhalmozódó extracelluláris matrix (ECM) komponensek révén, ami negatívan befolyásolja a systoles és a diastoles funkciókat. A fibrotikus szövet túlnyomórészt fibrilláris kollagénekből, I-es és III-as típusú kollagénből áll, amelyek erősen befolyásolják az ECM biomechanikai tulajdonságait [27]. A fibrilláris kollagén nagy szakítószilárdsággal rendelkezik, strukturális támaszt nyújtanak a szívizomnak, azonban ha túlzott mennyiségben vannak jelen, csökkentik a myocardialis compliance-t. A fibrosis nem csupán mechanikai igénybevételt generál, hanem megzavarja a szív elektrofiziológiai integritását is, jelentős mértékben hozzájárulva az arrythmiák előfordulásához. E ritmuszavarok, beleértve a brady- és tachyarrhythmiákat, az ektopikus aktivitásokat és a re-entry jelenségeket, a fibrosis következtében nagyobb arányban fordulnak elő, amelyek végső soron a szív pumpafunkciójának csökkenéséhez és a szívelégtelenség progressziójához vezetnek.

Számos bizonyíték támasztja alá, hogy az apoptosis is hozzájárul a szívelégtelenség progressziójához. A folyamat subcelluláris események kaszkádját foglalja magába, beleértve a

cytochrome c cytoplasmába történő felszabadulását, ahol proteolitikus caspase-okat (legfontosabb a caspase-3) aktivál. Az aktivált caspase-ok a cytoplasmatikus fehérjék, köztük a kontraktilis apparátus változó mértékű fragmentációjához vezetnek. Ennek eredményeképpen az apoptosis indukciója már a sejthalált megelőzően is kontraktilis dysfunctiohoz vezethet [28].



**2. ábra.** Pathofiziológiai mechanizmusok cardialis dysfunctioiban.

Részben adaptált forrás: [29].

### 2.2.1. A dyslipidaemia és az atherosclerosis jelentősége

Az atherosclerosis az artériák falának krónikus gyulladásos elváltozása, melynek kiemelkedő szerepe van a koszorúér-betegség és a szívégtelenség pathogenezisében [30]. Évente körülbelül 7,2 millió halálesethez vezet, valamint az American Heart Association jelentése szerint a prevalenciája 2030-ra 18%-kal fog emelkedni [31]. Kutatások bizonyították, hogy az egyik legfontosabb kockázati tényező a dyslipidaemia, amit magas plazma koleszterin-, vagy trigliceridszint, vagy mindkettő együttes fennállása jellemez.

Az érlemezés kialakulásának lépései: (1) endothel károsodás, (2) lipid akkumuláció, (3) gyulladás, (4) thrombocytá aggregatio. Az endothel károsodása az atherosclerotikus plaque megjelenésének előszobája. Az atheromák gyakran a koszorúerek

kanyarulatainál, elágazásainál fordulnak elő, ami arra enged következtetni, hogy a turbulens véráramlás és a megváltozott nyírófeszültség szerepet játszik a plaque-ok kialakulásában [32]. Endothel sérülés esetén az érfal permeabilitása fokozódik, melynek eredményeképpen az LDL-C partikulumok felhalmozódhatnak a tunica intima rétegében. Az évek során az érfal LDL-C-nel való kitettsége kumulálódik, ami a betegség kialakulásának és progressziójának fő meghatározója [33]. Az a megfigyelés, miszerint a familiáris hypercholesterinaemiában (FH) szenvedő betegek már fiatal korban elérik ezt a kumulatív LDL-C terhelési küszöböt és így korai atherosclerosis alakul ki, alátámasztja az LDL-C érlemezésedés pathomechanizmusában betöltött ok-okozati szerepét [34]. A FH homozigóta formájában kezelés nélkül az átlagos életkor jellemzően nem haladja meg a 30 évet és gyakran már tizenéves korban jelentkezik súlyos, életet veszélyeztető atherosclerosis, illetve szívinfarktus [35]. Az érfal sérülése esetén az endothelsejtek monocyta toborzást indukálnak, ami a monocyták gördülését, adhézióját, aktivációját és transzmigrációját foglalja magában. A folyamat a monocyták „befogásával” és az endotheliumon való gördülésükkel kezdődik, amit főként a P-selectin modulál [36]. Ezt követően a monocyták gördülése csökken, majd az endotheliumhoz kötődnek adhéziós molekulák segítségével, úgymint a vascularis sejtadhéziós molekula-1 (VCAM-1) és az intercelluláris adhéziós molekula-1 (ICAM-1). Az ICAM-1 alacsony szinten intakt artériás szegmensekben és endothelsejteken is megjelenik, míg a VCAM-1 expressziója csak gyulladás esetén figyelhető meg [37, 38]. A kemokinek általi aktivációt követően a monocyták átvándorolnak az érfal intima rétegébe. Ami a monocyta toborzást illeti, a monocyta kemoattraktáns protein-1 (MCP-1) a leggyakoribb kemokin, amely a transzmigrációt közvetíti. Ezzel párhuzamosan, az endothelsejtek által termelt növekedési faktorok hatására a tunica mediából származó vascularis simaizomsejtek (VSMC-k) az intima rétegébe migrálnak. Ezután az LDL a simaizomsejtek, monocyták és endothelsejtek által indukált oxidatív módosításon megy keresztül, ami oxidált-LDL (oxLDL) kialakulásához vezet. Az intimába kerülve a monocyták macrophagokká alakulnak át és a VSMC-vel együtt különböző mechanizmusok révén oxLDL-t vesznek fel, ami habos (foam) sejtek kialakulásához vezet. A macrophagok által termelt IL-1 fokozza a VSMC-k endogén vérlemezke eredetű növekedési faktor (PDGF) termelését, ami az intimában autokrin módon VSMC proliferációhoz vezet [39]. A VSMC-k a migráció és az azt követő proliferáció mellett az ECM-komponensek, úgymint interstitialis kollagén, elasztin és proteoglikánok termelését is fokozzák [40]. Végeredményben a burjánzó VSMC-k az ECM-termeléssel együtt fibrosus sapkát hoznak létre, amely beborítja a fejlődő atherosclerotikus plaque-ot, így körülveszi a laesiot és megakadályozza annak felszakadását.

Atherosclerosis kapcsán fontosnak tartom megemlíteni a heme oxygenase-1 (HO-1, más néven hsp32) enzimet, amely kiemelkedő szerepet játszik a szervezet védekező mechanizmusai között. Részt vesz a sejtek homeostasisának helyreállításában, valamint gyulladáscsökkentő, antioxidáns, antiapoptotikus hatásai révén az oxidatív stressz és gyulladás elleni cytoprotektív aktivitások kifejtésében [41]. E kedvező hatások többek között a szén-monoxid (CO), valamint az antioxidáns hatású biliverdin és bilirubin termelődésének, illetve a prooxidáns heme fokozott lebontásának köszönhetőek [42]. Kutatások bizonyították, hogy a HO-1 atherosclerotikus körülmények között upregulálódik az endothelsejtekben, ezáltal védelmet nyújt az oxLDL cytotoxikus hatásaival szemben [43]. Azok a farmakológiai intervenciók, amelyek képesek fokozni a HO-1 aktivitását, potenciálisan értékes elemei lehetnek a cardiovascularis betegségek komplex kezelési stratégiáinak. Napjainkra számos természetes eredetű vegyületet – úgymint a resveratrolt, az anthocyaninokat, a karnozolt, az epigallokatechin-gallátot, a quercetint, a fokhagymából származó szerves kénvegyületeket, valamint a kurkumint – azonosítottak, amelyek a HO-1 indukcióján keresztül új lehetőségeket kínálhatnak különböző kórállapotok prevenció és terápiás megközelítésében [44].

#### *A NO-cGMP-PKG útvonal*

A vascularis homeostasis fő regulátoraként az intakt endothelium fenntartja az érrendszeri tónust, valamint vérárvadástgátló, thrombocytaellenes és fibrinolyticus tulajdonságokat fejt ki. Az erek tónusának szabályozása számos értágító és érszűkítő anyag felszabadulásával valósul meg. Az endothelsejtekből származó egyik legfontosabb vasodilatator molekula a nitrogén-monoxid (NO), amelyet először 1980-ban Robert F. Furchgott endothelium-eredetű relaxációs faktor (EDRF) néven azonosított [45, 46].

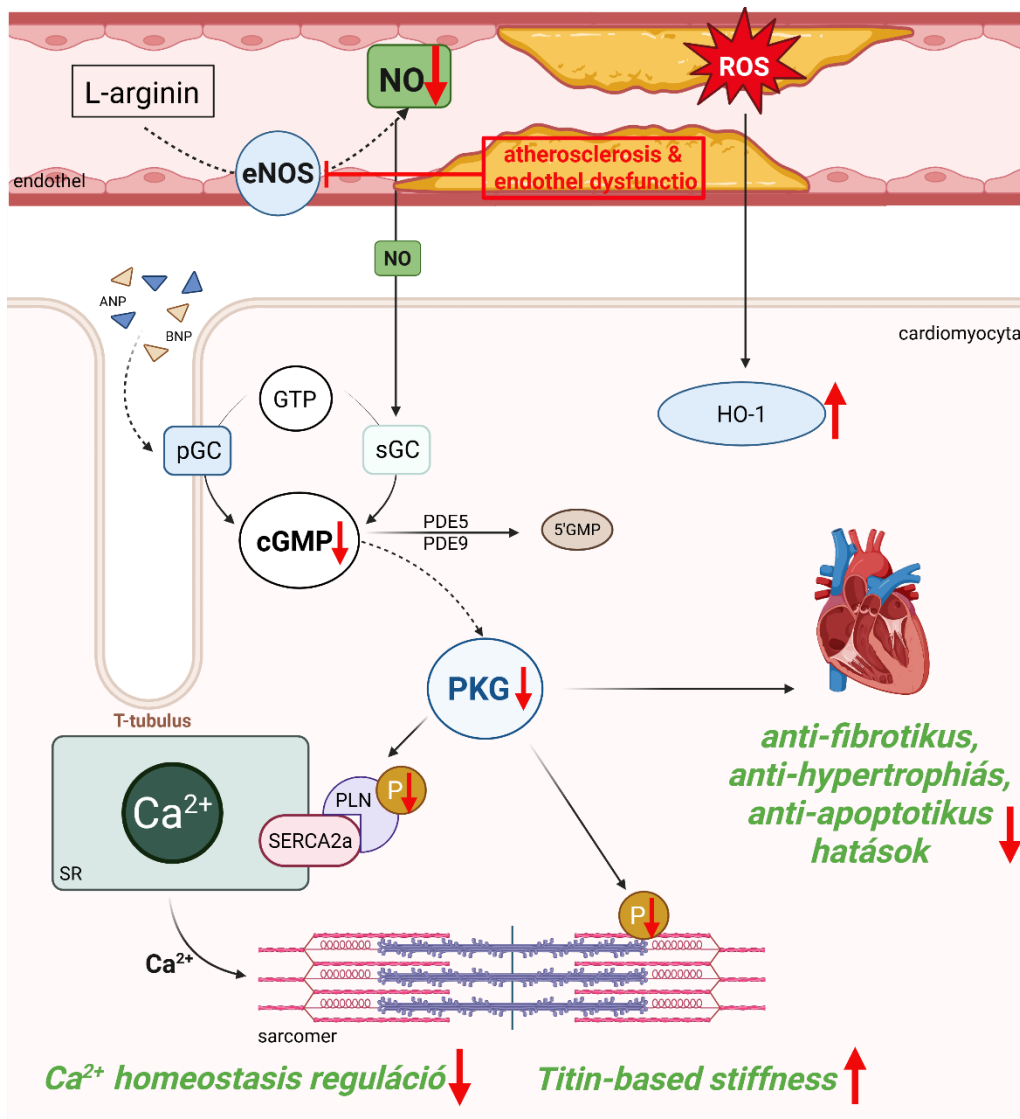
A NO L-argininből szintetizálódik, amely folyamatot az endothelsejtekben és a cardiomyocytákban egyaránt előforduló endothelialis NO-synthase (eNOS) katalizálja [47]. A felszabaduló NO egyfelől a vascularis simaizomsejtekhez diffundálva azok elernyedését, ezáltal vasorelaxációt okoz. Továbbá, a cardiomyocytákban a solubilis guanilat cyclase (sGC) aktiválásával fokozza a másodlagos hírvivő molekula ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) termelődését. Itt szeretném megemlíteni, hogy a cGMP szint az ANP és BNP által aktivált particularis guanilat cyclase (pGC) révén is emelkedhet, valamint lebontásában a phosphodiesterase (PDE5, PDE9) enzimek játszanak szerepet. A cGMP aktiválja a protein kinase G-t (PKG), amely az elmúlt évtized kutatásai alapján egy kulcsfontosságú cardioprotektív molekula (3. ábra). Két PKG gén létezik, a PKGI és a PKGII, de csak a PKGI

expresszálódik a szív- és érrendszerben [48]. A PKG gátolja a pathológiás remodellinget a myocardiumban, többek között anti-apoptotikus, anti-hypertrophiás és anti-fibrotikus tulajdonságai révén [49]. Ezen túlmenően a PKG egyéb célfehérjéket foszforilál, amelyek a myocardium relaxációját befolyásolják.

Diastole során az intracelluláris  $Ca^{2+}$  koncentráció csökkenését a sarco/endoplasmaticus reticulum  $Ca^{2+}$  ATP-áz 2a (SERCA2a) szabályozza, amit a phospholamban (PLN) foszforilációs állapota regulál. A protein kinase A (PKA) mellett a PKG is képes foszforilálni a PLN-t, melynek következményeképpen a PLN disszociál a SERCA2a-ról és így a pompa szabaddá válik [50]. Ennek következtében a SERCA2a visszajuttatja a  $Ca^{2+}$ -okat a cytoplasmából a sarcoplasmaticus reticulumba, biztosítva a szívizomsejtek relaxációját. Kutatások megállapították, hogy szívelégtelenség esetén a SERCA2a expressziója és aktivitása egyaránt csökkent, melynek háttérében meghúzódó egyik fontos mechanizmus a PKG csökkent működése [51].

A PKG másik fontos foszforilációs célpontja a titin nevű sarcomerikus óriásfehérje, amely a cardiomyocyták passzív feszülését szabályozza. A titin N2B régiójában bekövetkező foszforiláció csökkenti a myofibrillumok merevségét, ez segíti a szívizomsejtek relaxációját és a diastole folyamatát. Amennyiben alacsony PKG aktivitás esetén a fehérje hypofoszforilálódik, a szívizomsejtek merevsége fokozódik és diastoles dysfunctio alakulhat ki [52].

Diastoles funkciózavar esetén a NO-cGMP-PKG útvonal downregulációja figyelhető meg [53]. Hypercholesterinaemia és korai atherosclerosis esetén csökken a NO biológiai hozzáférhetősége, ez az endothel dysfunctio legszembetűnőbb jellemzője [54, 55]. Az ennek következtében kialakuló alacsony PKG aktivitás interstitialis fibrosishoz, valamint makroszkópos és mikroszkópos hypertrophiához vezet. Ezen molekuláris és strukturális eltérések következményeként késleltetett myocardialis relaxációt és megnövekedett cardiomyocyta „stiffness” (merevség) miatt kialakuló bal kamrai compliance csökkenést figyelhetünk meg, amely gyakran diastoles dysfunctio képében jelenik meg [56].



3. ábra. Az atherosclerosis talaján kialakuló cardialis dysfunctio.

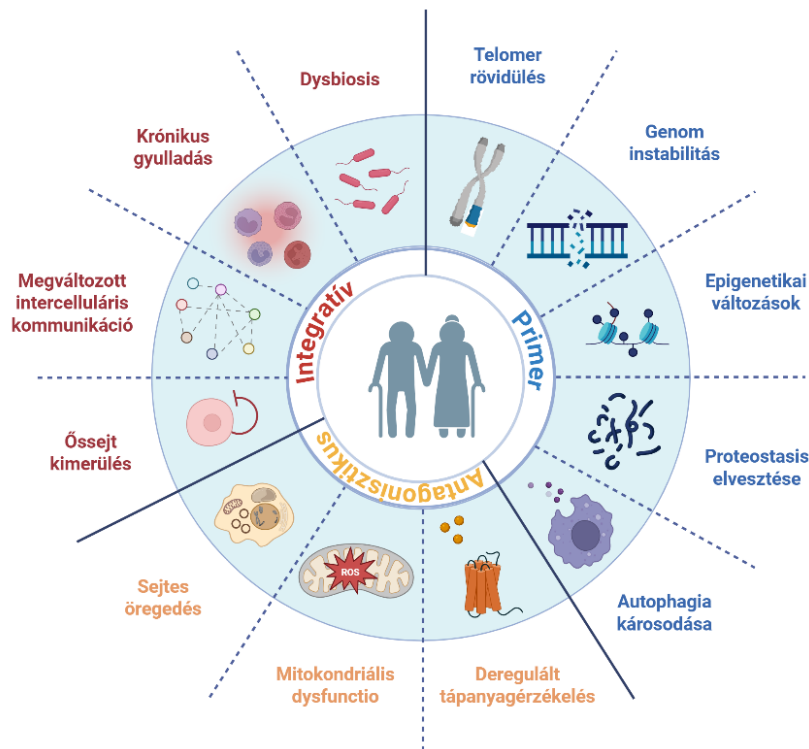
### 2.2.2. Az öregedés szerepe

Az öregedés (angolul *aging*) összetett és sokrétű folyamat, amely számos, egymással összefüggő molekuláris mechanizmust és sejtszisztémát érint. Fenotípusosan a biológiai öregedési folyamatot a sejtfunkciók fokozatos csökkenése és a szövetek szisztémás károsodása kíséri, ami számos betegségre való fogékonyságot eredményez, beleértve a szív- és érrendszeri, a neurodegeneratív, a mozgásszervi, az anyagcserét érintő és az immunrendszeri eltéréseket.

López-Otín és munkatársai által 2023-ban kiadott közlemény alapján az öregedés 12 molekuláris, sejtes és szisztémás jellemzőjét három fő kategóriába sorolhatjuk (4. ábra) [57]:

- (1) A „primer” jellemzők (genom instabilitás, telomer rövidülés, epigenetikai változások, proteostasis elvesztése, autophagia károsodása) mindegyike egyértelműen negatív.

- (2) Az „antagonisztikus” jellemzők (deregulált tápanyagérzékelés, mitokondriális dysfunctio, sejtes öregedés) közös ismérve, hogy a károsodásra adott válaszként magas intenzitáson működve fokozzák az öregedést.
- (3) Az „integratív” komponensek (össejt kimerülés, megváltozott intercelluláris kommunikáció, krónikus gyulladás, dysbiosis) közvetlenül befolyásolják a szöveti homeostasist és funkciót.



4. ábra. Az öregedés jellemzői. Adaptált forrás: [57].

Öregedés során ezen mechanizmusok együttesen fordulnak elő, egymással kapcsolatban állnak, ennek megfelelően egy adott mechanizmus kísérleti hangsúlyozása vagy mérséklése a többi mechanizmusra is hatással van. Mégis, egy bizonyos fokú hierarchia megállapítható a három fő kategória között. Az elsődleges eltérések lehetnek a kiváltó okok, amelyek káros következményei idővel fokozatosan felhalmozódnak. Az antagonisztikus jellemzők fokozatosan negatívvá válnak egy olyan folyamatban, amelyet részben az elsődleges jellemzők támogatnak vagy gyorsítanak. Végül, az integratív jellemzők akkor figyelhetők meg, amikor a primer és az antagonisztikus mechanizmusok által okozott és felhalmozott károsodást a szöveti homeostatikus mechanizmusok már nem tudják kompenzálni [58].

Ami a cardiovascularis rendszert érinti, az életkor előrehaladtával megjelenő magas vérnyomás, a cukorbetegség és a koszorúér-betegségek növekvő prevalenciája hozzájárul a szívelégtelenség gyakoriságának emelkedéséhez az idősök körében [59]. Másfelől, széleskörű bizonyítékok utalnak arra, hogy az életkor *önmagában* a szív- és érrendszeri betegségek egyik fő kockázati tényezője [60]. A cardialis funkció csökkenése 50 éves kor felett drámaian felgyorsul [61]. Érdekes tény, hogy a különösen magas életkort (>90 év) túlélő egyének, akiknél gyakran nem alakulnak ki egészségügyi problémák, túlnyomórészt a világ úgynevezett „kék zónáiban” élnek, melyek közül legismertebbek a görögországi Ikaria szigete, a japán Okinawa-sziget, Szardínia Barbagia régiója és a Nicoya-félsziget Costa Ricán [62]. Figyelemre méltó, hogy ezek a népességcsoportok genetikailag nem különböznek szomszédaiktól, de környezetük és életmódjuk, beleértve a szociális hálózatokat is, szerepet játszhat abban, hogy képesek tovább egészségesek maradni, mint a más területeken élők. További tényezők, mint például a rendszeres és következetes fizikai aktivitás, az étrend, az oktatás, a korai életszakaszban uralkodó körülmények jelentős hatással vannak a halálózásra.

Az emberi szív öregedésének élettani változásai elsősorban a bal kamrai hypertrophiát és a myocardialis fibrosist foglalják magukban [59]. Ezen eltérések fokozott kamrai merevséget okoznak, ami késlelteti a szívizom relaxációját, ezáltal a kamra telődése zavart szenved és ez a kamrai töltőnyomás emelkedését eredményezi [63]. A kamrák ezen elváltozásai csökkent terhelhetőséggel és gyakran pitvari elváltozásokkal is társulnak, növelve a pitvarfibrillatio kockázatát, mivel a bal pitvari hypertrophia és dilatatio fokozza a fogékonyságot [60]. Ezeknek az eseményeknek a kumulatív hatása hajlamosít az életkorral összefüggő diastoles dysfunctio kialakulására [64].

#### *A mitokondriális dinamika és a PKG-STAT3-Opa1 útvonal*

A mitokondriumok félig autonóm organellumok, amelyek a vörösvértestek kivételével az emberi test minden sejtjében jelen vannak. Általában elliptikus alakúak és kettős membránrendszer veszi őket körül. A belső membrán számos redőt (cristae) képez, amelyek az organellum belsejébe (matrixába) kesztyűujjszerűen betüremkednek. Általánosan a sejt „erőműveiként” ismertek, hiszen a mitokondriumok belső membránjában zajlik az oxidatív foszforiláció folyamata, melynek végeredményeként ATP termelődik [65]. A matrixban megtalálható a mitokondriumok saját, jellegzetesen gyűrű alakú DNS molekulája (mtDNS), amely a légzési lánc számos alegységének genetikai információját hordozza.

A mitokondriumok nemcsak az elsődleges energiaforrások a szívben, hanem kulcsfontosságú szerepük van a cardiomyocyták túlélésében is. A homeostasis fenntartását a

mitokondriális minőség-ellenőrzés (mitochondrial quality control, MQC) különböző folyamatok összehangolásával biztosítja: (1) mitokondriális biogenezis, (2) mitokondriális dinamika és (3) mitophagia [66]. A minőség-ellenőrzés bármilyen károsodása hibás mitokondriumok felhalmozódásához, sejtek elvesztéséhez és cardialis remodellációhoz vezethet.

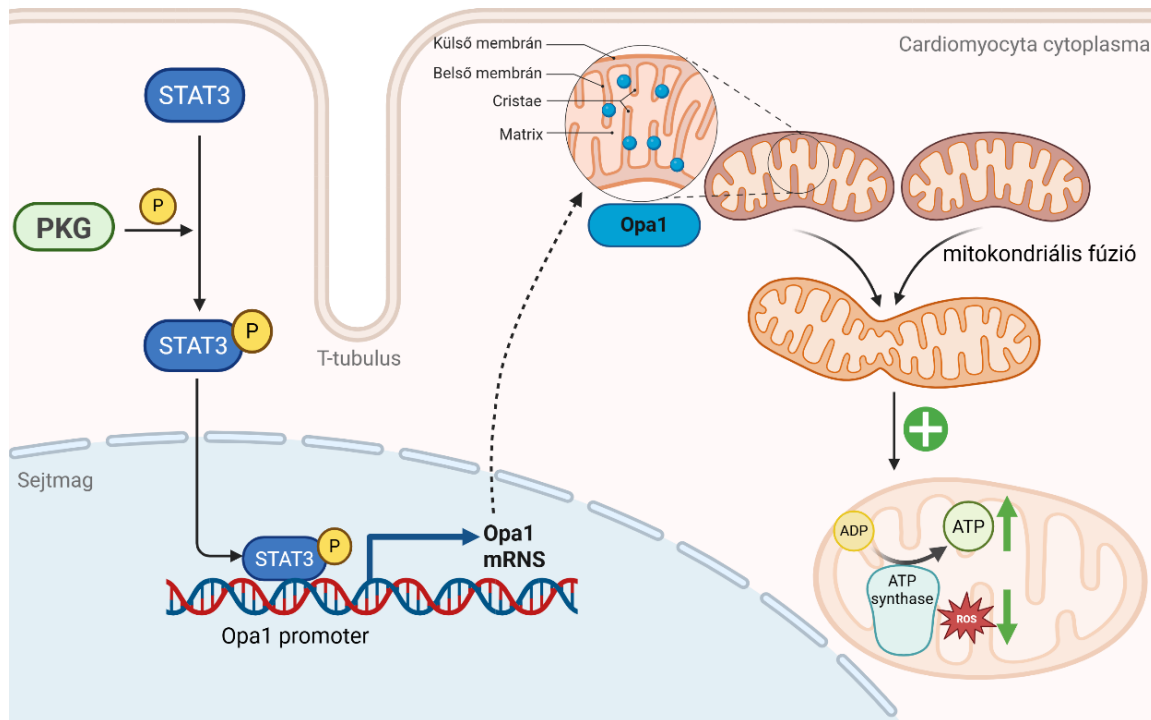
A mitokondriális dinamika révén ezek az organellek folyamatos mozgásban vannak, a fúzió és a hasadás meghatározza a mitokondriumok alakját, emellett jelentős hatással van a sejtek pathofiziológiai folyamataira. Fúzió során két mitokondrium összeolvad, amely hozzájárul a mitokondriális genom megőrzéséhez és az oxidatív foszforiláció fenntartásához. Először a külső membránok fúziója a mitofusin 1 és mitofusin 2 fehérjék segítségével valósul meg, míg a belső mitokondriális membránok összeolvadásáért az Optic atrophy 1 (Opa1) felelős [67]. Ezzel szemben a Dynamin-related protein 1 (Drp1) vezérelt mitokondriális hasadás elősegíti a sérült mitokondriális komponensek eltávolítását [68]. A folyamatos egyensúly a mitokondriumok fúziója és hasadása között lehetővé teszi a mitokondriális hálózat és ezáltal a sejtek bioenergetikájának és metabolizmusának fenntartását, ami a sejtek túlélésének döntő fontosságú folyamata [69].

Szívelégtelenség esetén a mitokondriális dysfunctio háttérében a dinamikát illetően csökkent fúzió és fokozott hasadás figyelhető meg [70]. Az életkor előrehaladtával megjelenő mitokondriális dinamika szabályozási zavara a cardiomyocyták apoptosishoz vezet [71]. Továbbá, a hasadás és a fúzió rendellenességei révén a mitokondriális „cristae” szerkezete is megváltozik, ami az ATP szintézis zavarát okozza. Ezen túlmenően a szív öregedését a mitokondriális funkció általános csökkenése kíséri, valamint az ebből eredő reaktív oxigéngyök (ROS) termelődés növekedése a szívelégtelenség kialakulásának egyik fő tényezője.

Chang és munkatársai 2023-ban arra a következtetésre jutottak, hogy a PKG-STAT3-Opa1 útvonal upregulációja fokozza a mitokondriális fúziót és csökkenti a ROS termelődését diabeteses cardiomyopathiában [72]. Ahogy fentebb is említettük, a szív- és érrendszeri kutatások rávilágítottak arra, hogy a PKG fehérje a cardioprotektív folyamatok fontos mediátora [73]. A PKG közvetlenül foszforilálja a jelátviteli és transzkripciós aktivátor 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) transzkripciós faktort, amely ezt követően dimerizálódik és a nucleusba transzlokálódik. Bár a STAT3 fokozott aktivitása az onkológiai betegségek esetében elősegíti a tumorprogressziót, cardiovascularis tanulmányok alátámasztják, hogy elengedhetetlen a myocardium védelméhez, főként az angiogenesis elősegítése, illetve az apoptosishoz és a fibrosis mérsékléséhez [74]. Az a tény is megállapításra került, miszerint cardiomyocyta-specifikus STAT3 deléciónál esetén életkorral-összefüggő

cardialis dysfunctio figyelhető meg [75]. A STAT3 a sejtmagban az Opa1 gén promoteréhez kötődik és fokozza annak átíródását [76]. Az Opa1 két fontos szereppel bír: fuzionálja a szomszédos mitokondriumok belső membránjait, továbbá szabályozza a cristae alakját és fenntartja a mitokondriális energetikát. Mivel a belső membrán redői tartalmazzák az apoptosis-aktivátor cytochrome c nagy részét, e folyamat szabályozása magyarázatot adhat az Opa1 ismert anti-apoptotikus hatására [77].

Amennyiben a mitokondriális dinamika szívben betöltött szerepe egyre feltérképezettebbé válik, a mitokondriális hasadás és fúzió terápiás modulálása hatékony eszközzé válhat a cardiovascularis betegségek leküzdésében és a szív öregedésének lassításában.



5. ábra. A PKG-STAT3-Opa1 útvonal.

## 2.3. Echocardiographia

### Technikai háttér

Az echocardiographia az egyik legszélesebb körben alkalmazott non-invazív módszer a cardiovascularis képalkotásban. Ezen diagnosztikus eljárás az ultrahang működési elvén alapul, miszerint a transzducerben lévő piezoelektromos kristályok ultrahangimpulzusokat bocsátanak ki, amelyek – a szöveti struktúrától függően – elnyelődhetnek, szétszóródhatnak, illetve

visszaverődhetnek. A diagnosztikus információt a visszaverődött ultrahangnyalábok hordozzák, amelyeket a transzducer detektál és a kristályok által elektromos jellé transzformál [78]. Az informatív ultrahangkép megalkotásához fontos tudnunk, hogy az ultrahangnyaláb penetrációs- és felbontóképessége függ az alkalmazott frekvenciától és hullámhossztól.

Az echocardiographiás képalkotás alappillére a 2D mód, amely lehetővé teszi a cardialis struktúrák mozgásának valós idejű detektálását. A leggyakoribb síkok a parasternalis hosszú tengely, a parasternalis rövid tengely és az apicalis nézet, de a suprasternalis metszet is gyakran alkalmazott. A 2D mód segítségével falmozgászavarok, valamint anatómiai eltérések egyaránt azonosíthatók. A legtöbb ultrahangkészülék képes a 2D kép megjelenítése mellett egyidejűleg az 1D nézetet biztosító M-mód képalkotásra is, amelynek eredeti leírása 1953-ban Inge Edler és fizikus barátja, Hellmuth Hertz nevéhez fűződik. A „szív jégcsákány-nézetének” gyakran nevezett M-módot Edler elsősorban a mitrális billentyű szűkület preoperatív vizsgálatára használta. Nagyobb időbeli és térbeli felbontással rendelkezik, a magasabb mintavételi gyakoriság miatt részletesebb elemzést tud adni a struktúrák helyzetének időbeli változásairól. Az M-mód echocardiogramok grafikonként értelmezhetők, melynek x tengelyén az idő, y tengelyén pedig a jelátalakítótól való távolság látható.

A systoles paraméterek meghatározásához a 2D, illetve M-módok alkalmazása elengedhetetlen. A bal kamrai systoles funkció központi mérőszáma az *ejekciós frakció* (EF), ami az egy összehúzódás során a keringésbe juttatott vértérfogat (stroke volume, SV, pulzustérfogat) a diastole végén a kamrában lévő vér térfogatához viszonyítva. Ez alapján  $EF = (SV / EDV) * 100$ , ahol a SV a végdiastoles volumen (EDV) és a végsystoles volumen (ESV) különbsége. Az American College of Cardiology szerint az EF normálnak tekinthető 50-70 % között. Az European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) meghatározása szerint systoles dysfunctiot jelez, ha az EF férfiaknál <52%, nőknél <54% [79]. Az ejekciós frakció objektív meghatározása történhet 2D, illetve M-mód mérésekkel. Az M-módban végzett elemzések fiziológiás kamrai geometriát és egységes, regionális különbségek nélküli kontraktilis funkciót feltételeznek, azonban ez a valóságban gyakran nem adatik meg. Ebből következik, hogy az ejekciós frakció számításához jobban előnyben részesítik a 2D módszereket, amelyek közül a Simpson-módszer a legelfogadottabb és a legszélesebb körben alkalmazott technika. Lényege, hogy az endocardium határait két síkban, apicalis négyüregű (A4C) és apicalis kétüregű (A2C) nézetben, végsystoleban és végdiastoleban is ki kell jelölni. Ezt követően a szoftver kiszámolja a pontos térfogatokat, végül az EF-t. Ez a módszer kevésbé függ a kamrai geometriától, mint az M-mód felvételeken kivitelezett mérések, amelyek – ha az ejekciós frakció számítására nem is -, de a *frakcionált rövidülés* (fractional shortening, FS)

meghatározására alkalmasak. A FS megadja a bal kamra átmérőjének százalékos csökkenését systole során. A bal kamrai végsystoles átmérő (left ventricular end systolic diameter, LVESD) és a bal kamrai végdiastoles átmérő (left ventricular end diastolic diameter, LVEDD) ismeretében a  $FS = [(LVEDD - LVESD) / LVEDD] * 100$ , normál értéke  $> 25\%$ . Az ejekciós frakcióhoz hasonlóan a frakcionált rövidülést is befolyásolja mind a preload, mind az afterload. Az említett paramétereken túlmenően a bal kamra systoles tevékenységének leírására szolgál a *mitrális anulus síkírányú systoles kitérése* (mitral annular plane systolic excursion, MAPSE), amelyet akkor tudunk detektálni, ha apicalis négyüregű nézetben az M-mód síkját a mitrális anulus laterális szélére pozícionáljuk. Amennyiben a maximális kitérés nagyobb, mint 1 cm (12-15 mm), akkor a MAPSE normálnak tekinthető. Hasonlóan, a *tricuspídalis anulus síkírányú systoles kitérése* (tricuspid annular plane systolic excursion, TAPSE) a jobb kamra systoles funkcióját jellemző paraméter.

A 2D és M-módok, illetve a segítségükkel meghatározható paraméterek ismertetését követően fontos a Doppler echocardiographiát is bemutatni. Ez a fajta képalkotás a Doppler-effektuson alapul, melynek lényege, hogy a mozgó objektumokról visszaverődő hanghullámok frekvenciája megváltozik. Először Christian Doppler a csillagok fényének vizsgálata közben fedezte fel a jelenséget 1842-ben. Szívultrahang esetében az ultrahang nyaláb a mozgó vörösvértestekről verődik vissza, ez az erythrocyták elmozdulásával, így a vér áramlási sebességével arányosan változtatja meg a hullám frekvenciáját. Color Doppler alkalmazásakor a véráramlás színekódoltan, „real-time” ábrázolódik a 2D képen kijelölt mezőben. Egységesen, a transzducer felé irányuló áramlás piros, a transzducertől távolodó áramlás pedig kék színnel jelenik meg. Pulzatis (pulsed wave, PW) Doppler esetében a „range gating” segítségével egy meghatározott mélységben tudunk precízen áramlási sebességet mérni, ezzel szemben a folyamatos hullámú (continuous wave, CW) Doppler lehetővé teszi a nagyobb sebességek mérését is az ultrahangsugár teljes hosszában [80].

A Doppler technika echocardiographiás mérések során gyakran alkalmazott módszer a bal kamra diastoles működésének megítélésére. A PW Dopplerrel apicalis négyüregű metszetben detektálható *mitrális beáramlási görbe* két sebesség-komponenssel rendelkezik: korai E és késői A hullámok. A diastole kezdetén az aortabillentyű bezárul és a bal kamra relaxációja azt eredményezi, hogy a kamrai nyomás a pitvari nyomás alá csökken. Ekkor a mitrális billentyű kinyílik és a vér passzívan a pitvarokból a kamrákba áramlik (E hullám), így a kamrai telődést kezdetben a pitvar-kamrai nyomásgrádiens hajtja. Ezt követően az aktív telődést a pitvari kontrakció (A hullám) reprezentálja a diastole késői szakaszában. A hullámok hányadosa az *E/A arány*, amely normális esetben nagyobb, mint 1. Diastoles dysfunctio esetén

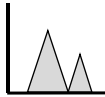
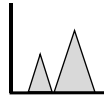
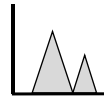
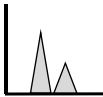
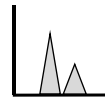
az E/A arány  $< 1$ , hiszen az elégtelen relaxáció következtében csökken a kamra passzív telődése (kisebb E hullám), ami nagyobb vérmennyiséget hagy vissza a pitvar számára (nagyobb A hullám). A mitrális beáramlási görbéről leolvasható következő paraméter a *decelerációs idő* (DecT), amely az E hullám csúcsától az alapvonalig eltelt időt jelenti. Normál tartománya 150-240 ms. Megjegyzendő, hogy Doppler mód és apicalis ötüregű nézet segítségével a *bal kamrai kiáramlási traktus* (left ventricle outflow tract, LVOT) sebesség- és nyomásprofilját is értékelni tudjuk. Aorta stenosis esetén magas csúcsebesség és nyomásgrádiens mérhető. PW Doppler alkalmazásakor negatív kitérésnek jelenik meg az áramlás, a görbe alatti terület (LVOT VTI, velocity-time integral, sebesség-idő integrál) és az LVOT területének ismeretében a SV (és így a perctérfogat, cardiac output, CO is) kiszámolható, hiszen  $SV = LVOT\ VTI * LVOT\ area$  és  $CO = SV * HR$ .

A Doppler képalkotás nemcsak a véráramlás mérésére, hanem a myocardialis szövet mozgásának vizsgálatára is alkalmazott módszer (Tissue Doppler Imaging, TDI). TDI során a viszonylag kisebb sebességű, de nagyobb amplitúdójú elmozdulások detektálására van lehetőség. Csúcsi négyüregű metszetben pulzatilis TDI-vel a mitrális anulus septalis és laterális részén a következő paramétereket tudjuk mérni: *bal kamrai csúcssystemes sebesség* ( $s'$ ), *korai kamrai csúcsdiastoles sebesség* ( $e'$ ) és a *pitvari kontrakció sebessége* ( $a'$ ). A TDI technika limitációjaként fontos ismerni, hogy a mért értékek nagymértékben függenek a beesési szögtől, illetve az abszolút szöveti sebesség mérése révén nem képes megkülönböztetni a szívizom aktív és passzív mozgását [81]. A diastole során megfigyelhető két sebesség is viszonyítható egymáshoz ( $e'/a'$  arány), továbbá az  $E/e'$  arány számolásával a bal kamrai töltőnyomás megbecsülhető, amely kulcsfontosságú diastoles elégtelenség esetén [82, 83]. Az  $E/e'$  arány részletesebben a 2.4.2. alfejezetben kerül bemutatásra. Végül, de nem utolsó sorban a (szöveti) Doppler felvételek analízisével az *izovolumetriás kontrakciós idő* (isovolumic contraction time, IVCT), az *izovolumetriás relaxációs idő* (isovolumic relaxation time, IVRT), valamint az *ejekciós idő* (ejection time, ET), így a globális kamrai teljesítményt jellemző *Tei-index* (Myocardial Performance Index, MPI) meghatározható, hiszen  $MPI = (IVCT + IVRT) / ET$  [84].

#### *A diastoles szívelégtelenség echocardiographiás jellemzői*

A diastoles dysfunctiot súlyossága alapján osztályozzuk (6. ábra) [85]. Enyhe esetben abnormális bal kamrai relaxációról beszélünk, nem emelkedett bal pitvari nyomás (left atrial pressure, LAP) mellett (Gr. I). A korai diastoles telődésért felelős pitvar-kamrai nyomásgrádiens

a magasabb bal kamrai nyomás következtében csökken, ezért az E hullám kisebb lesz (és az e' is), emellett a pitvari kontrakció jelentősége és így az A hullám is nő. Az E/A arány  $< 1$ , emellett a DecT megnyúlik. Ebben az esetben az E/e' arány normális, értéke  $< 8$ . A közepesen súlyos diastoles dysfunctio (Gr. II) a LAP emelkedésével (és emiatt sokszor bal pitvari tágulattal), valamint magas bal kamrai töltőnyomással (E/e': 8-15) jellemezhető. Korai diastoleban megnő a beáramlási sebesség, ezért a mitrális beáramlási mintázat az egészségeset utánozhatja (E/A arány  $> 1$ , pseudonormalizáció). Súlyos diastoles funkciózavar (restriktív telődés) esetében a LAP magas és az E/e' arány  $> 15$ . A korai telődési sebesség kórosan megnő (E/A arány  $> 2$ ), ezzel párhuzamosan a DecT lerövidül ( $< 160$  ms). Amennyiben Valsalva-manőver során a beáramlási mintázat (pseudo)normalizálódik, a telődés reverzibilisen restriktív (Gr. III). Ha nincs változás a mitrális beáramlási képben, akkor irreverzibilisen restriktív diastoles dysfunctioról (Gr. IV) beszélhetünk.

	<b>Normál diastoles funkció</b>	<b><u>Grade I</u> Abnormális relaxáció</b>	<b><u>Grade II</u> Pseudo-normalizáció</b>	<b><u>Grade III</u> Reverzibilisen restriktív</b>	<b><u>Grade IV</u> Irreverzibilisen restriktív</b>
<b>Mitrális beáramlási görbe</b>					
	E/A $> 1$ DecT $> 160$ ms	E/A $< 1$ DecT $> 200$ ms	E/A: 0,8 – 1,5 DecT: 160 - 200 ms	E/A $\geq 2$ DecT $< 160$ ms	E/A $\geq 2$ DecT $< 160$ ms
<b>E/e'</b>	$< 8$	$< 8$	8 - 15	$> 15$	$> 15$
<b>Bal pitvari nyomás</b>	normál	normál	↑↑	↑↑↑	↑↑↑↑

**6. ábra.** A diastoles dysfunctio osztályozása.

### *Egyéb echocardiographiás módszerek*

A Strain echocardiographia alapja, hogy a myocardium izomrostjainak orientációja a szív működés során longitudinális, radiális, illetve circumferenciális irányú deformálódást eredményez. A „strain” a deformálódás mértékét jelöli globálisan vagy szegmentálisan, a „strain rate” pedig a deformáció sebességét mutatja meg. A rövidülés és a vékonyodás a negatív, míg a vastagodás és a nyúlás pozitív strain értékekkel jellemezhető. A klinikai gyakorlatban a

globális longitudinális strain (GLS) meghatározása a legelterjedtebb, hiszen ez a paraméter alkalmas a subklinikus bal kamrai dysfunctio korai felismerésére [86, 87].

A klinikai gyakorlatban a falmozgászavarok strain-alapú kvantitatív leírására a 2D (vagy 3D) alapú speckle-tracking echocardiographia (2DSTE) a legmodernebb technika. Speciális szoftver detektálja és követi képkockáról képkockára a myocardium és az ultrahang nyaláb interakciójakor létrejövő természetes akusztikus markerek (speckle-k) elmozdulását. A 2DSTE nagy előnye a TDI alapú strain és strain rate analízisekkel szemben, hogy a méréseket a szög nem befolyásolja, azonban fontos limitációja, hogy megfelelő 2D képminőségre van szükség, emellett a háromdimenzióban mozgó szív, ha kimozdul a vizsgálati síkból, torzíthatja az eredményt [88].

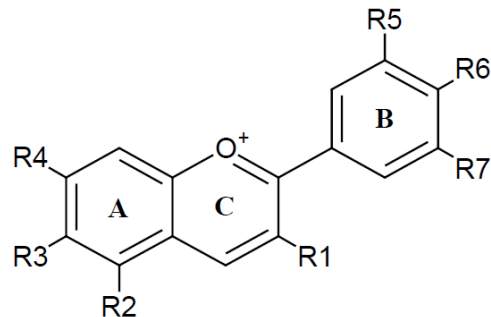
#### **2.4. Meggy (*Prunus cerasus* L.)**

A meggy (*Prunus cerasus* L.) a rózsafélék (*Rosaceae*) családjába tartozó csonthéjas gyümölcs. Magyarországon a termesztése több évszázados múltra tekint vissza. A földrajzi és éghajlati viszonyoknak, valamint a hosszú nemesítői munkának köszönhetően a világban egyedülálló fajtaválaszték és kiemelkedő tápértékkel rendelkező fajták találhatók meg az országban.

A meggy számos biológiailag aktív vegyületet tartalmaz, amelyek potenciális egészségvédő hatással bírnak. Ezek a fitokemikáliák (vagy más néven fitonutriensek) a gyümölcs magjában, húzában és héjában egyaránt megtalálhatóak. A fitokemikáliák legnagyobb csoportját képező, antioxidáns tulajdonságokkal rendelkező polifenolos vegyületek két fő osztályba sorolhatók: (1) flavonoidok és (2) nem-flavonoid polifenolok [89]. A meggy jelentős mennyiségben tartalmaz flavonoid típusú vegyületeket, különösen anthocyaninokat, valamint olyan egyéb bioaktív komponenseket, mint a quercetin, apigenin, kaempferol és catechin. Emellett számottevő mennyiségben fordulnak elő benne nem-flavonoid fenolsavak is, például a kávésav és a galluszsav [90, 91]. Ezen felül, a meggy gazdag melatonin, kálium és C-vitamin forrás [92].

A gyümölcs az elmúlt évtizedekben hívta fel magára a figyelmet magas anthocyanin tartalma miatt, melynek köszönhetően mondhatni ma már funkcionális élelmiszernek tekinthető. Az anthocyaninok vízben oldódó pigmentek, számos gyümölcsben, zöldségben és virágban megtalálhatóak. Színük a piros, a kék, valamint a lila árnyalataiban változik, a környezet pH-jától függően. Magas koncentrációban fordulnak elő pl. sötét színű bogyós gyümölcsökben, különösen a - fentebb említett - meggyben, a fekete málnában, a fekete

ribizliben és az áfonyában, továbbá a vörösbortban, a gránátalmában és a vörös káposztában [93]. Szerkezetüket tekintve fő egységük az anthocyanidin aglikon, ehhez kapcsolódik a természetben glikozid kötéssel a vegyület stabilitását és vízdékonyságát fokozó cukor molekula [94].



**7. ábra.** Az anthocyaninok általános szerkezeti képlete. Egy aromás gyűrűhöz (A) egy nem-aromás, oxigénatomot tartalmazó gyűrű (C) kapcsolódik, amely egy harmadik benzolgyűrűhöz (B) szén-szén kötéssel kötődik. Az alapvegyület 7 különböző helyén (R1-R7) eltérő csoportokkal (leggyakrabban hidroxil-, vagy metoxicsoportokkal) történő szubsztitúciója felelős az eltérő tulajdonságokért. (Saját ábra, ChemDoodle programmal készítve, version 12.7.0)

Számos kutatás beszámol az anthocyaninok cytoprotektív [95], tumorelles [96], antidiabetikus [97], antimikrobiális [98] és elhízás elleni [99] hatásáról, amelyek alapján ígéretesnek bizonyulnak különböző kórképek kezelésének kiegészítésében. Ez a flavonoidcsoport közismerten erős gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatású, ami magyarázza a hozzájuk kapcsolódó biológiai hatásokat. Hatásmechanizmusuk elsősorban arra épül, hogy fokozzák az oxidatív stressz elleni védelmet, hiszen megkötik a reaktív oxigén szabadgyököket és növelik a szervezet saját antioxidáns enzimjeinek aktivitását [100]. Továbbá, gyulladáscsökkentő hatásuk alapja, hogy gátolják a pro-inflammatorikus citokinek (pl. TNF- $\alpha$ , IL-6) termelődését, valamint blokkolják az NF- $\kappa$ B transzkripció faktort és a COX enzimek aktivitását, amelyek kulcsszerepet játszanak a gyulladási folyamatokban [101, 102].

Tanulmányok bizonyítják, hogy az anthocyaninok jelentős protektív hatással bírnak a cardiovascularis rendszerre. Egy 120 dyslipidaemiás betegen végzett kutatás során azt tapasztalták, hogy napi 320 mg anthocyanin szedése 12 héten át szignifikánsan emelte a HDL-koleszterin arányát, ezzel párhuzamosan pedig csökkentette az LDL-koleszterin szintjét [103]. A lipidprofil optimalizálásán túl mérséklék a CRP szintet, gátolják az LDL-oxidációt, valamint a NO-cGMP útvonal aktiválásán keresztül javítják az endothel funkciót, így fokozva az

atherosclerosis elleni védekezést [104, 105]. Az anthocyaninok cardioprotektív hatása *in vivo* és *ex vivo* kísérletekkel is alátámasztott. Azokban a patkányokban, amelyek anthocyaninban gazdag tápot kaptak, magasabb preischemiás glutation szintet mértek, majd kisebb ischaemia/reperfusios károsodást detektáltak, mint a normál tápot fogyasztó állatok esetében [106]. Egy 18 éven át tartó kutatás pedig bemutatta, hogy a 25-42 év közötti nők körében a magas anthocyanin tartalmú ételek fogyasztása szignifikánsan csökkenti az acut myocardialis infarktus kockázatát [107].

Az anthocyaninok biológiai aktivitását a fentebb részletezett preklinikai és klinikai vizsgálatok eredményei igazolják. Ezek alapján az anthocyaninok ígéretesnek bizonyulnak a cardiovascularis betegségek prevenció és kiegészítő terápiás megközelítéseiben, ám az alkalmazási lehetőségek és a részletes molekuláris mechanizmusok mélyebb megértése végett további kutatások szükségesek.

## 2.5. Testmozgás

A rendszeres testmozgás széles körben elismert az egészséges életmód, valamint a szív- és érrendszeri betegségek hatékony, nem gyógyszeres terápiás stratégiájaként. Az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization, WHO) ajánlása alapján a 18-64 éves felnőtteknek legalább 150-300 perc közepes intenzitású, vagy legalább 75-150 perc magas intenzitású aerob testmozgást, vagy a kettő egyenértékű kombinációját szükséges végezniük a hét folyamán. A fizikai aktivitást heti három alkalomra ajánlott elosztani, így csökkenthetjük a sérülések kockázatát. Kiegészítésképpen, további előnyökkel járhat, ha heti 2 vagy több alkalommal (az aerob tevékenység mellett) izomerősítő tréninget is végzünk. 65 éves kor felett is a fentebb leírt ajánlások az érvényesek, melyet tanácsos kiegészíteni heti 3 alkalommal végzett egyensúlyfejlesztő tornákkal, a funkcionális képességek javítása és az esések megelőzése érdekében [108]. Természetesen ezeket az általános ajánlásokat igazítani szükséges az egyén aktuális fizikai állapotához, az edzettségi szint, a krónikus mozgásszervi problémák és az egyéb kórfolyamatok figyelembevételével.

A testedzés legszembetűnőbb cardialis hatása a maximális oxigénfelvétel és a perctérfogat emelkedése. 1968-ban jelent meg a mérföldkőnek számító tanulmány, amely az első bizonyítékot szolgáltatva a testmozgás szívre gyakorolt hatásairól [109]. Saltin és munkatársai kimutatták, hogy 20 napos teljes inaktivitás elegendő ahhoz, hogy a maximális oxigénfelvétel ( $VO_2max$ ) és a maximális perctérfogat ~26%-kal csökkenjen, valamint 8 hét fizikai aktivitás mindkét változót képes volt 18%-kal, illetve 14%-kal növelni a teljes inaktivitás

előtti szint felé. A maximális perctérfogat a  $VO_2\max$  legfontosabb meghatározója, hiszen a  $VO_2\max$  a maximális perctérfogat és az arteriovenosus oxigénkülönbség szorzata. Ami a perctérfogat emelkedését illeti, edzés alatt nagyrészt a szívfrekvencia (heart rate, HR) növekedése okozza. Fontos hangsúlyozni, hogy a rendszeres testmozgás következtében a nyugalmi HR idővel csökken, hiszen a fizikai aktivitás során a paraszimpatikus tónus megnő, ami másodlagosan a HR variabilitás növekedését okozza, emellett az adrenerg stimulusra adott válaszreakció is csökken [110, 111]. Következésképpen, rendszeresen sportoló egyéneknél a perctérfogat nagymértékű növekedése elsősorban a nagyobb pulzustérfogat (stroke volume, SV) eredménye, amely a bal kamrai végdiastoles térfogat növekedése és a végsystoles térfogat csökkenése miatt emelkedik. A végdiastoles térfogatot a diastoles töltődés befolyásolja, amelyet viszont a HR, a kamrai compliance, a töltőnyomás, a pitvari összehúzódás közötti összetett kapcsolat határoz meg. Összességében elmondható, hogy a SV növekedése a testmozgás következtében e változók kombinációjának változásából ered [112]. Továbbá, számos tanulmány alátámasztja, hogy az edzés csökkenti a testtömeg-indexet, az össz-koleszterin szintet és a vérnyomást, ezáltal a cardiovascularis események előfordulását [113], valamint az antioxidáns kapacitás fokozása révén védő hatást fejt ki a szívizomra [114].

A testmozgás szív- és érrendszeri egészségre gyakorolt előnyei összefüggésbe hozhatók az edzés által kiváltott fiziológiás hypertrophiával, a szerkezeti és funkcionális vascularis remodellációval, valamint a mitokondriális működést és a glükóz/lipid anyagcserét érintő metabolikus adaptációkkal [115]. Eközben a testmozgás szisztémás válaszokat is indukál, ezáltal más szervekre is hatással van az extracelluláris vezikulákon és a bél mikrobiomon keresztül, ami szintén hozzájárulhat a protektív hatásokhoz [116-118].

A fizikai aktivitás excentrikus cardialis hypertrophiához vezet, amelyet a kamrai térfogatok és a falvastagság arányos változása jellemez. Ezen fiziológiás hypertrophia egy adaptív és reverzibilis folyamat, amely krónikus edzésstimuláció hatására jelenik meg és cardioprotektív hatással bír [119]. Továbbá, a hypertrophia ezen változata nem jár együtt fibrosissal és a szívizomsejtek apoptózisával, viszont adaptív fehérjeszintézist, valamint megnövekedett zsírsav- és glükózoxidációt idéz elő, ami elősegíti a cardiomyocyták növekedését és az ATP-termelést [115]. Ezek a szerkezeti módosulások lényegesen eltérnek a hypertonia, aorta stenosis, myocardialis infarktus és dilatativ cardiomyopathia esetén kialakuló kóros hypertrophiától, amely fokozatosan cardialis remodellinghez és később szívelégtelenséghez vezet [26]. Míg patológiás hypertrophia esetén a noradrenalin, az angiotensin II és az ET-1 szerepe vitathatatlan, fiziológiás hypertrophiában egészen más jelátviteli útvonalak kerültek leírásra, úgymint az inzulinszerű növekedési faktor-1/

foszfatidilinozitol -3 kináz/protein kináz B (IGF-1/PI3K/Akt) és a CCAAT/enhancer binding protein  $\beta$ /Cbp/p300-interacting transactivator (C/EBP $\beta$ /CITED4) [120, 121].

A testmozgás fiziológiai stresszor, amely fokozza a szervezet haemodinamikai működését és energiatermelését. A szív mitokondriumi dinamikusan reagálnak a terhelésre, ezáltal a biogenezis, a mitokondriális dinamika, valamint a mitophagia folyamatain keresztül fenntartják a sejtek homeostasisát és energiaellátását [122]. Ami a fúzió/hasadás egyensúlyát illeti, tanulmányok kimutatták, hogy fizikai aktivitás hatására változik a mitokondriális dinamika szabályozásában résztvevő fehérjék szintje [123]. Kiemelendő, hogy állatkísérletekben végzett kutatások egymással megegyező eredményeket kaptak, miszerint a testmozgás hatására nő a fúziós fehérjék, illetve csökken a hasadásban résztvevő proteinek expressziója [124, 125].

Kevés tudományos adat áll rendelkezésre arról, hogy milyen intenzitású mozgásformák előnyösek az életkor előrehaladtával kialakuló cardialis dysfunctio esetén. A rekreációs, szabadidős tevékenységek célja, hogy a mindennapi élet szempontjából szükséges jó fizikai állapotot és erőnlétet biztosítsák, míg a forszírozott fizikai aktivitás egy szabályozott, mérsékelt intenzitású, a rekreációs tevékenységnél hosszabb ideig végzett testmozgást jelöl. A fizikai aktivitás hatásait tanulmányozó preklinikai kutatások esetében elengedhetetlen a különböző edzés-intervenciók hatékonyságának objektív összevetése, hiszen ez többletinformációval szolgálhat az állatkísérletes eredmények klinikai, humán alkalmazásokba történő transzlációja esetén.

### 3. Célkitűzések

Fontosnak tartom megjegyezni, hogy kutatásaink során első lépésként létrehoztuk a vizsgálni kívánt kórállapotokat reprezentáló állatmodelleket, ebből kifolyólag nem a prevenció, hanem a kezelési lehetőségek iránt érdeklődtünk. Olyan természetes módszerek terápiás hatásait vizsgáltuk, amelyeket gyakran alkalmaznak betegségek megelőzésére és kialakulásának késleltetésére; mi azonban kezelési lehetőségként vizsgáltuk őket, a már kialakult szív- és érrendszeri eltérések kiváltó okainak kezelésére és enyhítésére összpontosítva.

Az alábbi célokat fogalmaztuk meg:

1. Nyúl modellen a hypercholesterinaemia talaján kialakuló cardiovascularis eltérések detektálása, majd azok hosszú távú per os anthocyaninokkal való kezelése, valamint az alkalmazott terápia atherosclerosisra, vascularis statusra, illetve szívfunkciós paraméterekre és myocardialis HO-1 és eNOS-PKG-SERCA2a útvonalra kifejtett hatásának értékelése.
2. Idős patkány modellt alkalmazva echocardiographiás módszerrel a rekreációs és a forszírozott testmozgás öregedéssel összefüggő cardialis dysfuncióra gyakorolt hatásának összehasonlítása, valamint molekuláris szinten a mitokondriális fúziót elősegítő PKG-STAT3-Opa1 útvonalbeli fehérjék expressziójának és az ATP-synthase aktivitásának elemzése a különböző mozgásformák esetében.

## 4. Anyagok és módszerek

### 4.1. Etikai irányelvek

Az állatok megérkezését követően 2 hetes adaptációs periódust biztosítottunk számukra. Kísérleteinket az Európai Parlament és a Tanács a tudományos célokra felhasznált állatok védelméről szóló 2010/63/EU irányelvvel összhangban hajtottuk végre. A laboratóriumi állatok humánus bánásmódban részesültek, valamint az összes metodika elvégzését a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság regisztrálta (4/2022/DEMÁB; 3/2022/DEMÁB) és a Hajdú-Bihar Vármegyei Kormányhivatal Agrárügyi Főosztály Élelmiszerlánc-biztonsági és Állategészségügyi Osztálya hagyta jóvá.

### 4.2. Kísérleti elrendezés

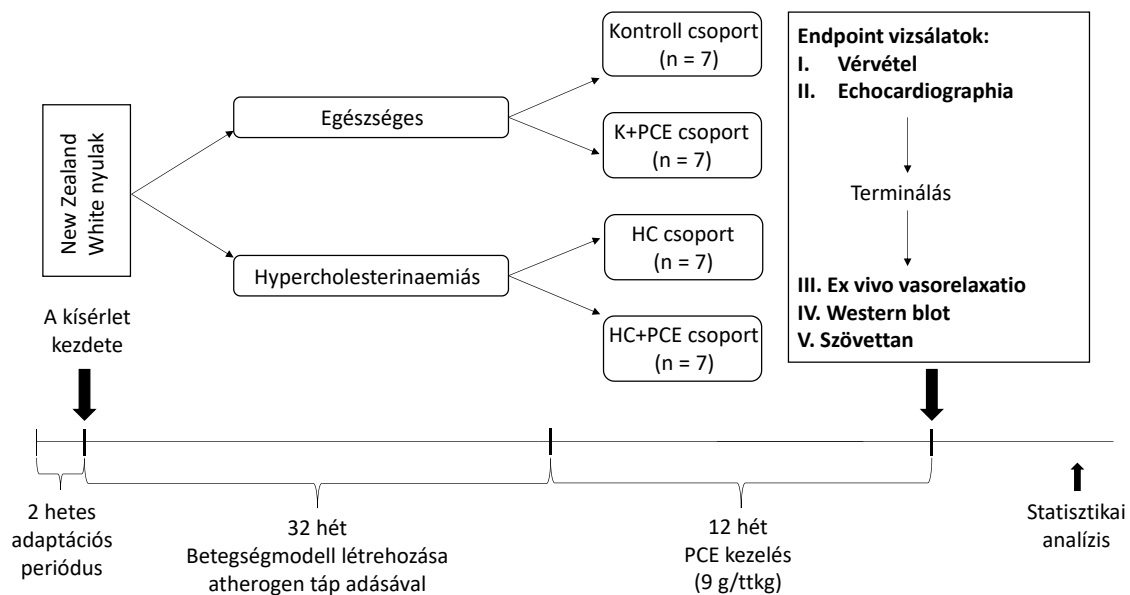
#### 4.2.1. Meggykivonat-kezelés hatásának vizsgálata HC nyúl modellen

A kísérlet kezdetén, 2 hetes adaptációs időszakot követően a 3 éves hím nyulakat (Juráskó Kft, Debrecen, Magyarország) véletlenszerűen két csoportra osztottuk: (1) normál nyúltapon tartott egészséges Kontroll csoport; (2) a hypercholesterinaemiás (HC) csoport állatainál az atherosclerosist és a következményes cardialis dysfunctiot a következő módon értük el: időszakosan adtuk az 1% koleszterinnel és 1% trigliceriddel dúsított „atherogen” tápot (Pro Drug Bt, Debrecen, Magyarország) 3 héten át, majd a normál eledelt 1 hétig, ezt nyolcszor ismételve. A beteg állatmodell létrehozása így 32 hetet vett igénybe.

Ezt követően a meglévő 2 csoportot kettéosztottuk, így alakult ki a végleges kísérleti elrendezés, amely 4 kezelési csoportot foglalt magába (n=7/csoport): (1) Kontroll: az ebbe a csoportba tartozó állatok a kísérlet teljes ideje alatt normál tápot kaptak; (2) K+PCE: a normál eledel mellett 9 g/ttkg meggykivonat-kezelésben részesülő nyulak; (3) HC: „atherogen” étrenden tartott kísérleti állatok; (4) HC+PCE: koleszterindús tápot és mellette 9 g/ttkg meggykivonat-kezelést kapó nyulak. A *Prunus cerasus* extraktum (PCE, meggykivonat) kezelés 12 héten át tartott, a következő módon: a kívánt 200 ml csapvízben feloldva, majd az itatóba töltve adtuk az állatoknak az esti órákban. Másnap, miután a teljes mennyiséget megitták, friss vízzel töltöttük fel az itatókat.

A kísérlet végpontjában vért vettünk a nyulak marginális fülvénájából, majd ketamin/xylazin (35/3 mg/ttkg i.m.) anaesthesia alatt echocardiographiás méréseket végeztünk. Ezt követően mély altatásban végzett thoracotomia során az aorta thoracica distalis részét kimetszettük és *ex vivo* vascularis vizsgálatnak vetettük alá. Az aorta thoracica fennmaradó részét 10 %-os formalinba tettük a későbbi szövettani vizsgálatok előkészítésére, illetve a bal

kamra mintákat először folyékony nitrogénben, majd - 80 °C-on tároltuk, Western blot technika kivitelezése céljából.



**8. ábra.** Az első kísérlet folyamatábrája. Az akklimatizálás után a nyulak fele normál tápot kapott, a másik felét pedig 32 héten keresztül atherogen étrenden tartottuk. Ezt követően az állatokat 4 alcsoportra osztottuk ( $n = 7$  mindegyikben): (1) kezeletlen Kontroll csoport; (2) 12 héten át 9 g/kg PCE-vel kezelt egészséges nyulak (K+PCE); (3) koleszterinben gazdag étrenden tartott hypercholesterinaemiás (HC) állatok; és (4) 12 héten keresztül 9 g/kg PCE-kezelt HC nyulak (HC+PCE). A tanulmány végpontjában vérvételt követően szívultrahangos méréseket és *ex vivo* vascularis vizsgálatot végeztünk, amely funkcionális metodikák eredményeit később Western blottal és szövettani elemzésekkel támasztottunk alá.

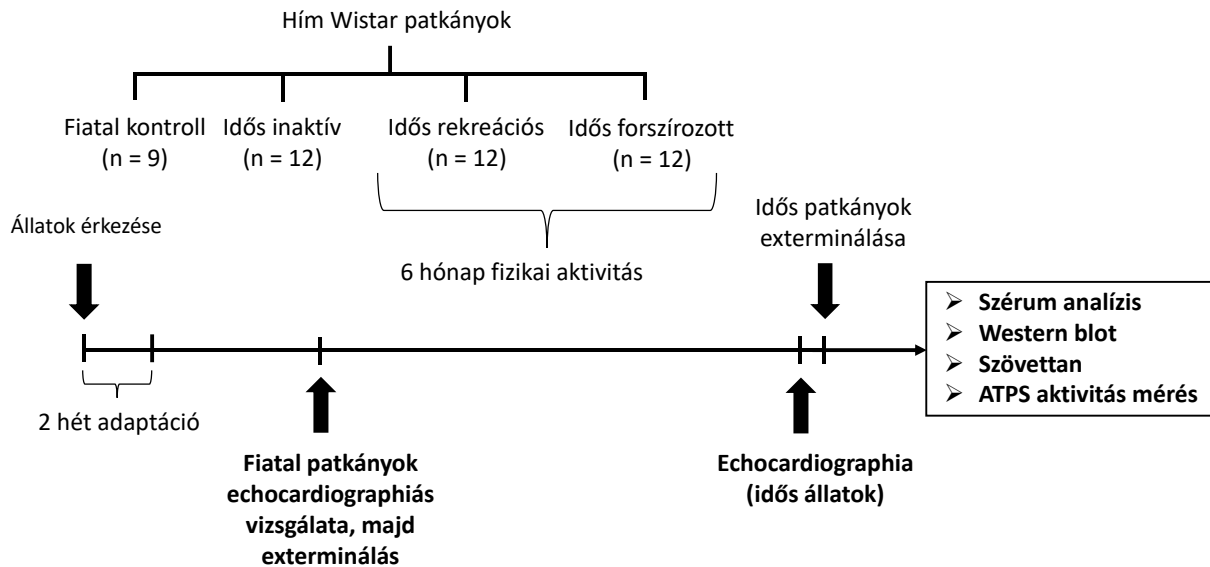
#### 4.2.2. Fizikai aktivitás hatásának vizsgálata idős patkány modellen

Második kísérletünkben 9 fiatal (12 hetes) és 36 idősödő (18 hónapos) hím Wistar patkányt használtunk fel. Az állatok megérkezését követő 2 hetes akklimatizációs periódus után 4 csoportot hoztunk létre: (1) fiatal kontroll csoport ( $n = 9$ ); (2) idősödő (18 hónapos) kezeletlen kontroll csoport ( $n = 12$ ): a kísérlet teljes ideje alatt inaktívak, fizikai aktivitást nem végeznek; (3) rekreációs tevékenységet végző idősödő (18 hónapos) patkányok ( $n = 12$ ): a ketrecükbe beépített futókereket (Lafayette Instrument Company, North Lafayette, IN, USA) tetszés szerint

használhatták a nap 24 órájában, 6 hónapon át; (4) forszírozott testmozgásnak alávetett 18 hónapos patkányok (n = 12): az ebbe a kezelési csoportba tartozó állatokat meghatározott sebességgel, meghatározott ideig futtattuk egy elektronikusan vezérelt készülék, a Walking Wheel System for Rats (Lafayette Instrument Company, North Lafayette, IN, USA) segítségével, 6 hónapon át napi rendszerességgel, a vasárnapi pihenőnap kivételével. A tanulmány kivitelezése során az állatház egyik helyiségében a 12-12 órás világos-sötét ciklust megfordítottuk, ezzel lehetővé téve, hogy az éjszakai életmódot folytató patkányok az erőltetett testmozgást az ébrenléti fázisukban végezzék.

A forszírozott futás protokolljának első lépéseként az állatokat hozzászoktattuk a futókerékhez, ezzel megszürvé az erőltetett testmozgás kivitelezésére alkalmatlan patkányokat és egyben csökkentve az őket ért stresszt. Eleinte 5 percig az álló kerékkal ismerkedtek, majd 5 m/perc sebességgel elindítottuk a rendszert. Minden nap 0,5 m/perccel fokoztuk a sebességet, amíg el nem érjük a szakirodalom által javasolt 13 m/percet. Ezt követően az időt kezdtük el növelni: az volt a cél, hogy minden nap 1 perccel növeljük a futás idejét, amíg el nem értük a 20 perces időtartamot.

A 6 hónapos fizikai aktivitás végén az idős patkányok 2 évesek voltak, míg a fiatal állatok esetében 12 hetes korban történt az exterminálás. A kísérlet végpontjában felületes altatásban (ketamin/xylazin 50/5 mg/ttkg, i.m.) echocardiographiás méréseket végeztünk. Ezután a kíméletes túlaltatásban végzett thoracotomiát cardialis punctioval történő vérvétel követte. Továbbá, a bal kamra szövetmintáit folyékony nitrogénben lefagyasztottuk, majd - 80 °C-on tároltuk a Western blot módszer és az ATP-synthase aktivitás vizsgálata céljából, illetve 10 %-os neutrális formalinoldatban fixáltuk a későbbi szövettani vizsgálatok előkészítésére. Az összes, kísérletben résztvevő állat testsúlyát hetente regisztráltuk.



**9. ábra.** A patkány modell kísérleti protokollja. A 2 hetes adaptációs időszak után 4 kísérleti csoportot hoztunk létre: (1) fiatal kontroll csoport (n = 9); (2) idős, fizikailag inaktív életmódot folytató patkányok (n = 12); (3) idős csoport, akik 6 hónapig szabadon használhatták a ketrecükbe beépített futókereket (n = 12); (4) idős patkányok, akik 6 hónapig forszírozott testmozgást végeztek (n = 12). Minden patkány esetében az echocardiographiás méréseket követően humánus eutanáziát végeztünk, amelyet számos kísérleti eljárás követett: szérum analízis, Western blot, szövettani festés és ATP-synthase aktivitásmérés.

### 4.3. Anthocyaninok

A PCE előállítását a Debreceni Egyetem Élelmiszertechnológiai Intézetében történt. Az Érdi bőtermő magyar meggyfajtából készült, amelyet 2020 júniusa és júliusa között szüreteltek. A PCE fő anthocyanin-komponensei a cianidin-3-O-rutinozid, a cianidin-3-O-glükozid és a cianidin-3-O-glükozil-rutinozid voltak, emellett néhány fenolos vegyület elhanyagolható mennyiségben volt jelen.

### 4.4. Echocardiographia

Transthoracalis szívultrahang vizsgálatot mindkét kísérleti modell esetében végeztünk. Az állatokat előzetesen elbódítottuk i.m. ketamin/xylazin kombináció segítségével (nyúl: 35/3 mg/ttkg; patkány: 50/5 mg/ttkg), a mellkasukat borító szőrt leborotváltuk, majd háton, illetve csúcsi felvételek készítése esetén bal oldalt fekvő helyzetbe pozícionáltuk őket. A mérésekhez

GE Vivid E9 (GE Healthcare, New York, NY, USA) készüléket használtunk. A felvételek készítése során a humán vizsgálatoknál alkalmazott protokollt követtük, az American Society of Echocardiography ajánlásának megfelelően [126]. Először parasternalis hossztenyelyi metszetben (PLAX) 2D és M-módot alkalmazva az aortagyök és a bal pitvar anteroposterior átmérőjét, majd a papilláris izmok magasságában a bal kamra következő paramétereit állapítottuk meg: ejekciós frakció, frakcionált rövidülés, bal kamra belső átmérője systoleban és diastoleban, interventricularis septum és a bal kamra posterior falának vastagsága systoleban és diastoleban. A pontosabb eredmények érdekében ugyanezeket rövidtenyelyi nézetből (SAX) is megmértük. Ezt követően csúcsi 4 üregű metszetből a mitrális beáramlási görbét, illetve annak korai (E) és késői, pitvari (A) komponenseit azonosítottuk pulzatis (pulsed wave, PW) Doppler segítségével. Szintén ebből a nézetből, szöveti Doppler (TDI) technikával a septalis és lateralis mitrális anulus mozgási sebességeit mértük meg: bal kamrai systoles csúcssebesség ( $s'$ ), korai ( $e'$ ) és késői ( $a'$ ) diastoles csúcssebességek. M-módot alkalmazva meghatároztuk a mitrális és tricuspídalis anulusok síkirányú systoles kitérését (MAPSE, TAPSE). Csúcsi 5 üregű nézetből Doppler technikával megmértük a bal kamrai kiáramlási traktus (LVOT) sebesség-, illetve nyomásgrádienseit.

Az echocardiographiás felvételeket külső merevlemezen táruztuk és egy későbbi időpontban elemeztük ki EchoPAC PC szoftver (ver. 112, GE Healthcare, New York, NY, USA) segítségével. Egy állatban minden paraméter esetében 5 egymás utáni szívciklus során mért eredményeket átlagoltunk. Utólagos elemzés során egyéb paramétereket is származtattunk: a mitrális beáramlási görbe felhasználásával az E/A arányt és a decelerációs időt (DecT), a TDI felvételekről az  $e'/a'$  arányt, az ejekciós időt, a mitrális billentyű záródásától a nyitódásig eltelt időt, valamint az izovolumetriás kontrakciós időt (IVCT) és az izovolumetriás relaxációs időt (IVRT). Továbbá, a bal kamrai töltőnyomás becslésére alkalmas E/ $e'$  arányt és a globális myocardialis teljesítményt meghatározó Tei-indexet is számoltunk. Első kísérletünk esetében apicalis nézetből globális longitudinális strain-t (GLS) határoztunk meg STE segítségével.

#### **4.5. Szérum paraméterek meghatározása**

Mindkét kísérleti protokoll végén, illetve a nyúl modell esetében a 12 hetes kezelést megelőzően vért vettünk az állatoktól BD Vacutainer SST II Advance csövekbe (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA). A nyulak esetében a marginális fülvénából, míg a patkánykísérlet során - a thoracotomiát követően - a szív bal kamrájából származó mintákat a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Laboratóriumi Medicina Intézete

vizsgálta, ahol az alábbi paraméterek kerültek meghatározásra: összkoleszterin, alacsony sűrűségű lipoprotein (LDL), magas sűrűségű lipoprotein (HDL), triglicerid, aszpartát-aminotranszferáz (AST), alanin-aminotranszferáz (ALT), C-reaktív protein (CRP), glükóz, urea, kreatinin. A nyúl modell esetében az N-terminális pro-B natriuretikus peptid (NT-proBNP) és a kreatin-kináz-MB (CK-MB) szinteket is mérték. A szérum paraméterek meghatározása automata analizátorok segítségével történt (F. Hoffmann-La Roche AG, Bázél, Svájc).

#### **4.6. Endothel-függő vasorelaxáció vizsgálata**

A hypercholesterinaemiás nyulak esetében a thoracotomiát követően az aorta thoracica distalis részét kimetszettük és oxigenizált Krebs-oldatba helyeztük. Ezt követően az adventitiát eltávolítottuk és 2 mm széles gyűrűket (minden állatból négyet) preparáltunk. A preparátumokat vízszintesen, 10 mN nyugalmi feszüléssel vertikális szervkádakban (Experimetria TSZ-04, Experimetria Kft, Budapest, Magyarország) rögzítettük, amelyek 10 ml, 95% O<sub>2</sub> és 5% CO<sub>2</sub> eleggyel átszellőztetett Krebs-oldatot (36°C; pH=7,4) tartalmaztak. Az érgyűrűk simaizomrétegének izometrikus kontraktilis erejét transzducer (SD-01; Experimetria Kft, Budapest, Magyarország), valamint SPEL Advanced IsoSys szoftver (SOFT 02, 2.9-es verzió; MDE Kft., Budapest, Magyarország) segítségével regisztráltuk.

60 perces inkubációs periódust követően noradrenalin koncentráció-hatás (E/c) görbét vettünk fel (1 nmol/l-től 10 µmol/l-ig), majd meghatároztuk a félhatásos koncentrációkat (EC<sub>50</sub>) minden érgyűrű esetében. Ezt egy 60 perces mosási periódus követte, amely után a kiszámolt EC<sub>50</sub> értéknek megfelelő koncentrációjú noradrenalin segítségével pre-kontrahált állapotba hoztuk az ereket. Protokoll szerint megvártuk, amíg a kontrakciós erők stabilizálódnak, majd acetyl-kolin hozzáadásával (1 nmol/l-től 1 mmol/l-ig) újabb E/c görbét vettünk fel.

Az ugyanabból az állatból származó aortagyűrűk válaszait átlagoltuk. A noradrenalin hatását a vascularis feszültség maximális növekedéseként határoztuk meg a korábban beállított 10 mN nyugalmi szinthez képest. Az acetyl-kolin hatását viszont a (noradrenalin előidézett) pre-kontrakció által kiváltott érrendszeri feszültség százalékos csökkenéseként határoztuk meg. (Amennyiben összehúzódnak, annak maximumát vettük figyelembe, negatív relaxációként.)

#### 4.7. Szövettan

A szövetekben bekövetkező elváltozások detektálásához különböző szövettani festéseket alkalmaztunk. Az eltávolított szövetrészeket 10%-os formalinban (pH=7,4) fixáltuk 24 órán át. Ezt követően a mintákat folyó csapvíz alatt mostuk 1 óráig, majd 70%-os etanolban tároltuk a további lépésekig. Feldolgozáskor a mintákat felszálló alkoholsor segítségével dehidráltuk, majd az alkohol eltávolítására xilolt alkalmaztunk, mielőtt a mintákat a megolvasztott paraffinnal átítattuk. Végül, a formába öntött paraffin-blokkokból 5 µm vastagságú metszeteket készítettünk, kézi üzemű rotációs mikrotómot (Leica Biosystems, Nussloch, Németország) használva.

A hypercholesterinaemiás nyúl modell esetében az aorta minták hematoxylin-eosinnal festett metszetein a tunica intima és media rétegvastagságát mértük, melyből később átlagos intima/media arányt számoltunk (n=5 minden csoportban).

A patkányok bal kamrájának fibrotikus elváltozásainak szövettani vizsgálatához Masson's trichrome festést alkalmaztunk. Minden patkányban 5, 50 µm-nél nagyobb lumenátmérőjű coronaria esetében a következőképpen határoztuk meg a perivascularis fibrosis arányt (PFR): az érfalat körülvevő fibrotikus terület osztva az ér teljes területével (n=5 csoportonként).

A festett metszetek vizualizálása Nikon Eclipse 80i mikroszkóp (Nikon Corp., Tokió, Japán) és Nikon NIS-Elements BR (Ver5.41.00) szoftver (Nikon Corp., Tokió, Japán) segítségével történt.

#### 4.8. Fehérje izolálás

Mindkét kísérlet esetében a vizsgálni kívánt fehérjék expresszióját, továbbá a patkány modellben az ATPS aktivitást bal kamrai myocardium mintákból határoztuk meg. A fehérjék izolálásához 300 mg mélyfagyasztott mintát késes homogenizátor segítségével a következőket tartalmazó pufferben homogenizáltuk: 25 mM Tris, 25 mM NaCl, 1 mM Na-orthovanadát, 10 mM NaF, 10 mM Na-pyrophosphate, 10 nM okadánsav, 0.5 mM EDTA, 1 mM PMSF, proteáz inhibitor koktél, valamint desztillált víz. Ezt követően a homogenizátumokat 2000 rpm-en 10 percig 4 °C-on centrifugáltuk. Az így kapott felülúszó a cytosolikus és a mitokondriális proteineket, míg az alulúszó a nukleáris frakciót tartalmazta. Minden mintát 1 órán át jégen inkubáltunk 0,1% Triton-X-100-at (Sigma-Aldrich-Merck KGaA, Darmstadt, Németország) tartalmazó homogenizáló oldatban. Egy második centrifugálást követően 14000 rpm-en 10 percig 4 °C-on (és a cito+mito mintákat előtte 10000 rpm-en 20 percig 4 °C-on) a kapott

felülúszókat 3 felé osztottuk: (1) a minták 10  $\mu$ L-éből spektrofotométer (FLUOstar Optima, BMG Labtech, Ortenberg, Németország) segítségével összfehérje-koncentrációt mértünk BCA módszerrel (QuantiPro BCA Assay Kit, Sigma-Aldrich-Merk KGaA, Darmstadt, Németország); (2) ezután a maradék térfogatból 50  $\mu$ L-t 1:1 arányban Laemmli pufferrel (Sigma-Aldrich-Merck KGaA, Darmstadt, Németország) hígítottunk; (3) végül a maradék mintákat - 80 °C-on tároltuk.

#### 4.9. Western blot

A Laemmli-vel hígított minták előzetesen kiszámolt loadolási mennyiségeit 12%-os SDS-poliakrilamid géltre vittük fel, majd a fehérjéket molekulatömegük alapján elektroforézis segítségével szétválasztottuk. Ezt követően a fehérjéket a gélről nitrocellulóz (nyúl kísérlet), illetve PVDF (patkány kísérlet) membránokra transzferáltuk (90 perc, 25 V). A membránok szabad kötőhelyeit 5% BSA-t tartalmazó TBS-T oldattal blokkoltuk szobahőmérsékleten, 60 percig. Következő lépésként a membránokat az alábbi primer antitestekkel overnight inkubáltuk 4°C-on: anti-glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase (GAPDH, housekeeping fehérje; Cat.No: G8795); anti-endothelial nitric oxide synthase (eNOS, Cat.No: ab5589); anti-protein kinase G (PKG, Cat.No: ab97339); anti-sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2a (SERCA2a, Cat.No: ab2817); and anti-heme oxygenase-1 (HO-1, Cat.No: SAB2108676); anti-histone H3 (housekeeping fehérje; Cat.No: ab176842); anti-protein kinase G (PKG, Cat.No: ab110124); anti-signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3, Cat.No: ab109085); anti-optic atrophy 1 (Opa1, Cat.No: ab42364); anti-ATP-synthase (ATPS, Cat.No: ab181243). Az antitesteket az Abcam (Cambridge, Egyesült Királyság) vagy a Sigma-Aldrich-Merck (Darmstadt, Németország) cégektől rendeltük. Másnap reggel a membránokat 3x10 percig TBS-T-oldattal mostuk, majd 45 percig szobahőmérsékleten a megfelelő HRP-konjugált anti-rabbit/anti-mouse secunder antitestekkel inkubáltuk. Ismét 3x10 perc mosás után a fehérjék előhívása ECL-szubsztrát (WesternBright™, ECL, Advansta Inc., San Jose, CA, USA) és LiCor C-Digit® blot scanner (LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) segítségével történt. A blotok pixel-denzitásának kiértékelésére Image Studio Digits szoftvert (ver.5.2.; LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) használtunk, majd az azonos mintában detektált housekeeping fehérje (GAPDH/Histone H3) pixel-sűrűségére normalizáltunk. Minden fehérje esetében 3 független kísérlet eredményeit átlagoltuk, csoportonként 3 állatból származó mintákon.

#### 4.10. ATPS aktivitás mérés

A patkány kísérlet esetében bal kamrai ATPS (más néven Complex V) aktivitást határoztunk meg ATP Synthase Activity Assay Kit segítségével (ab109716; Abcam, Cambridge, Egyesült Királyság). Először a gyártó által biztosított 96-lyukú microplate-re felvittük a myocardium mintákat a gyártó által javasolt hígításban, majd a 3 órás inkubációs periódus során az ATPS bekötődött a plate mélyedéseibe. Az enzim működése kapcsán  $\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}^+$  oxidáció figyelhető meg, amely folyamat spektrofotométer (Variokan LUX Multimode Microplate Reader; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) használatával a 340 nm-en mért abszorbancia csökkenéssel detektálható. A mérési görbék lineáris szakaszát kijelölő abszorbanciák különbsége és a két pont között eltelt idő hányadosa adja meg a mintában lévő ATPS aktivitását. Minden csoport esetében 5 állat myocardialis enzim aktivitását határoztuk meg, minden mintát háromszor analizálva és a végén az eredményeket átlagolva.

#### 4.11. Statisztikai analízis

Az eredmények kiértékeléséhez GraphPad Prism programot (ver. 10; GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) alkalmaztunk. Először a normál eloszlás vizsgálatát D'Agostino–Pearson (nyúl kísérlet), illetve Shapiro-Wilk (patkány kísérlet) normalitás teszttel vizsgáltuk. A nyúl modell esetében a kísérleti csoportok adatait egyutas varianciaanalízissel (ANOVA), majd Tukey's post hoc teszttel, vagy (normális eloszlás hiányában) Kruskal-Wallis, majd Dunn's post hoc analízissel vizsgáltuk. A patkányokon végzett tanulmány eredményeinek elemzése során a fiatal kontroll és az idős inaktív csoportokat páratlan t-próbával hasonlítottuk össze, majd a 3 öreg csoport (inaktív, rekreációs, erőltetett futó) különbségeit egyutas varianciaanalízissel (ANOVA), ezt követően Tukey's post hoc teszttel azonosítottuk. Az eredményeket szignifikánsnak tekintettük, amennyiben  $p < 0,05$ . Az adatok átlag  $\pm$  SEM-ben (standard error of the mean) vannak feltüntetve.

## 5. Eredmények

### 5.1. Atherosclerotikus nyúl modell

#### 5.1.1. Szérum paraméterek

Az összkoleszterin és az alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin (LDL-C) szintje szignifikánsan magasabb volt a hypercholesterinaemiás csoportban a Kontroll csoporthoz képest (mindkét esetben  $p < 0,0001$ ). A nagy sűrűségű lipoprotein-koleszterin (HDL-C) szintjében hasonló tendenciát tapasztaltunk (Kontroll vs. HC:  $p = 0,0022$ ). A plazma atherogen index (AIP) esetében a HC csoport nyulaiban szignifikánsan magasabb értékeket mértünk, mint az egészséges Kontroll állatoknál ( $p < 0,0001$ ).

A PCE-vel kezelt HC nyulak (HC+PCE) esetében szignifikáns javulást figyeltünk meg a lipidprofilban a kezeletlen HC csoporthoz képest. Megállapítottuk, hogy a PCE szignifikánsan csökkentette mind az összkoleszterin ( $p = 0,0013$ ), mind az LDL-C szintjét ( $p < 0,0001$ ). Továbbá megfigyeltük, hogy az anthocyaninokkal kezelt HC nyulaknál az AIP értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint a kezeletlen HC állatoknál ( $p = 0,0028$ ).

Nem találtunk markáns különbségeket a kísérleti csoportok szérum triglicerid szintje között. A gyulladási marker C-reaktív protein (CRP) koncentrációja négyszer magasabb volt a hypercholesterinaemiás nyulak szérumban az egészséges csoportokhoz képest, míg a kezelt csoportban négyszer alacsonyabb volt, mint a kezeletlen HC csoportban. Mindemellett, nem észleltünk jelentős változásokat a cardialis necroenzim CK-MB szintjében. A vércukorszintek és a májenzimek (AST és ALT) kapcsán sem azonosítottunk eltéréseket. Vizsgálatunk egyik limitációjaként megjegyezzük, hogy az NT-pro-BNP szintek minden kezelési csoportban a kimutatási határ alatt maradtak.

A vizsgált szérum paraméterek eredményeit az 1. táblázat tartalmazza.

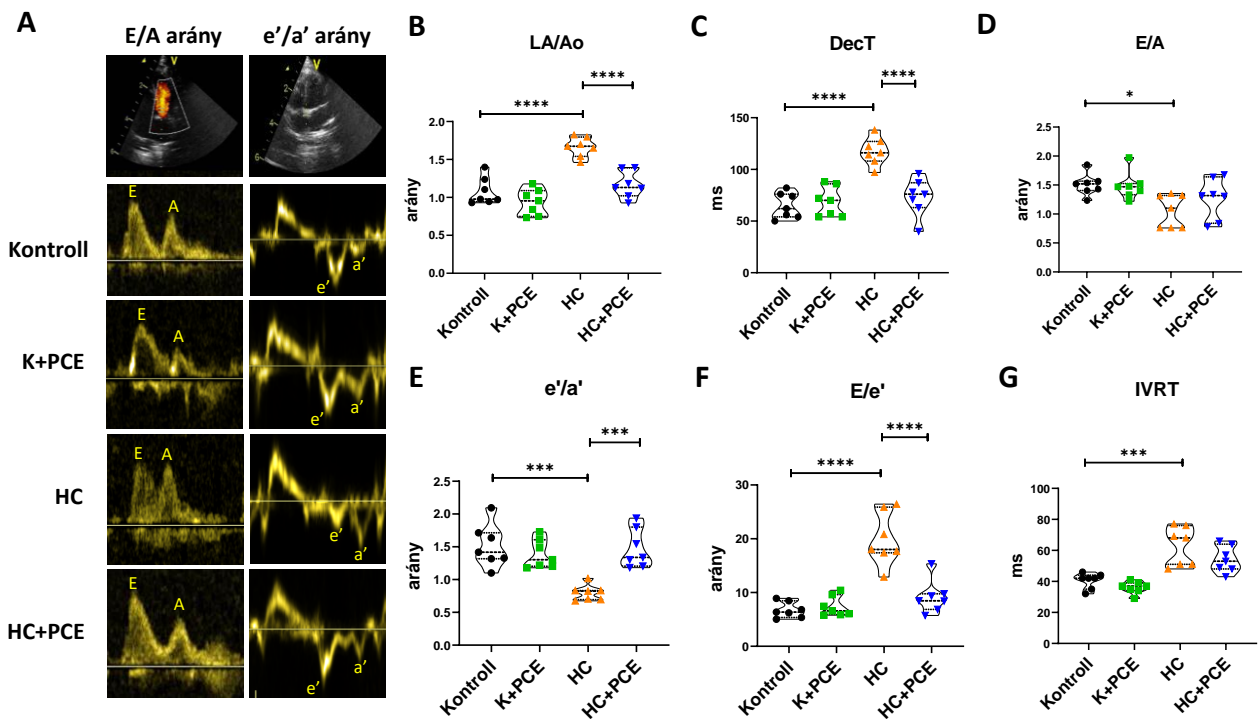
Szérum paraméter	Kontroll	K+PCE	HC	HC+PCE
Összkoleszterin (mmol/l)	0,72 ± 0,083	0,478 ± 0,066	34,79 ± 1,319****	25,02 ± 2,546##****
LDL-C (mmol/l)	0,096 ± 0,007	0,071 ± 0,012	32,99 ± 0,694****	21,80 ± 2,054#####
HDL-C (mmol/l)	0,452 ± 0,049	0,282 ± 0,060	1,714 ± 0,408**	1,458 ± 0,197**
Plazma atherogen index (AIP)	1,613 ± 0,075	2,102 ± 0,313	28,17 ± 4,225****	18,09 ± 0,756##****
Triglicerid (mmol/l)	0,968 ± 0,227	0,829 ± 0,157	1,239 ± 0,195	1,635 ± 0,368
CRP (mg/l)	0,2 ± 0,104	0,241 ± 0,091	0,815 ± 0,649	0,15 ± 0,023
CK-MB (U/l)	217,7 ± 58,62	446 ± 125,1	477,4 ± 75,19	480,9 ± 82,50
AST (GOT) (U/l)	20,60 ± 2,768	20,78 ± 2,159	30,75 ± 6,421	30,22 ± 4,300
ALT (GPT) (U/l)	56,76 ± 7,115	44,62 ± 3,042	37,98 ± 7,127	43,01 ± 7,825
Glükóz (mmol/l)	5,473 ± 0,217	6,774 ± 0,348	6,940 ± 0,552	7,040 ± 0,255

**1. táblázat.** Vérvételi eredmények. Minden adat átlag  $\pm$  SEM-ben van kifejezve (\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$  a Kontrollhoz képest; ##  $p < 0,01$ ; #####  $p < 0,0001$  a HC csoporthoz képest).

### 5.1.2. Echocardiographia

A szívultrahangos adatok kiértékelése során megállapítottuk, hogy a hypercholesterinaemiás (HC) nyulak diastoles dysfunctiót reprezentáló jeleket mutattak a Kontroll csoporthoz képest (10.ábra). A HC csoportban a bal pitvar/aortagyök átmérő aránya (LA/Ao) megnőtt ( $p < 0,0001$ ), a decelerációs idő (DecT) és az izovolumetriás relaxációs idő (IVRT) megnyúlt (DecT:  $p < 0,0001$ ; IVRT:  $p = 0,0148$ ), miközben az E/A arány és az  $e'/a'$  arány csökkent (E/A:  $p = 0,0234$ ;  $e'/a'$ :  $p = 0,0002$ ) az egészséges nyulakhoz viszonyítva. A HC állatok esetében tapasztalt magasabb E/ $e'$  arány ( $p < 0,0001$ ) a bal kamrai töltőnyomás fokozódására enged következtetni.

A diastoles funkciót leíró echocardiographiás paraméterekben szignifikáns javulást figyeltünk meg a PCE-vel kezelt csoportban (HC+PCE) a kezeletlen HC nyulakhoz képest: a bal pitvari tágulat mérséklődött (LA/Ao arány:  $p < 0,0001$ ), a DecT megnyúlása csökkent ( $p < 0,0001$ ), valamint a szöveti Dopplerrel szignifikánsan magasabb  $e'/a'$  arányt ( $p = 0,0002$ ) detektáltunk. Továbbá, a PCE-vel kezelt állatokban az E/ $e'$  arány szignifikánsan csökkent a kezeletlen, atherogen diétán tartott nyulakhoz képest ( $p < 0,0001$ ).



**10. ábra.** Az A) panelen reprezentatív echocardiographiás felvételek (Doppler, illetve szöveti Doppler módok) láthatók. B) – G) paneleken a legfontosabb, diastoles funkciót leíró szívultrahangos paraméterek eredményei vannak ábrázolva. Az adatok átlag  $\pm$  SEM-ben vannak megadva. A csillagok a szignifikancia szintjét jelölik (\*:  $p < 0,05$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*\*  $< 0,0001$ ).

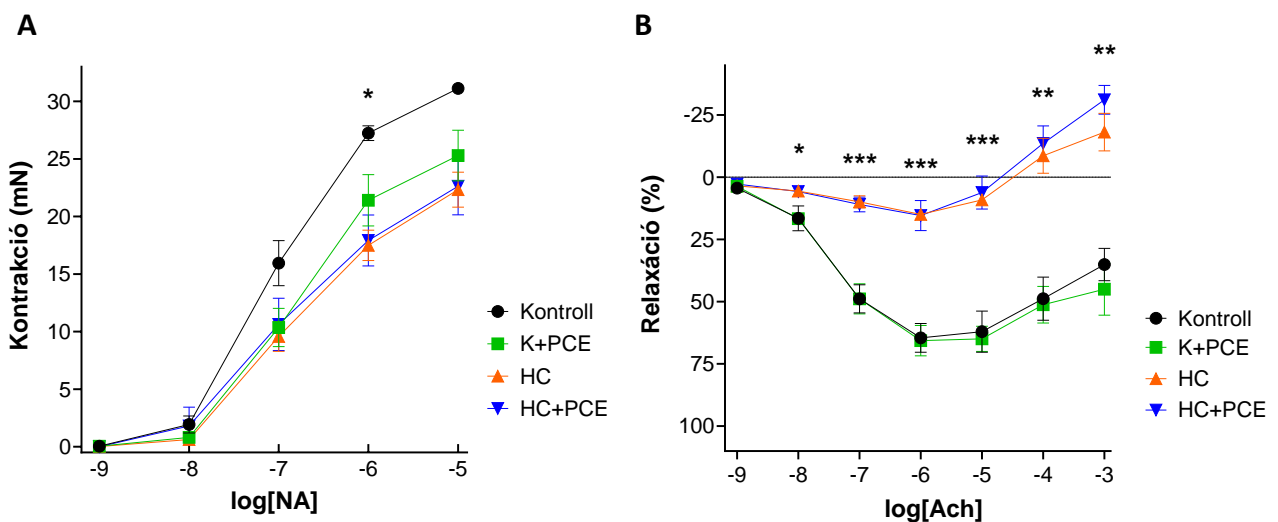
Nem találtunk szignifikáns különbségeket a kísérleti csoportok Tei-index értékeiben. A Speckle-tracking echocardiographia (STE) segítségével csökkent globális longitudinális strain (GLS) mértünk a HC csoportban a Kontrollhoz képest, míg a GLS értékek javultak a HC+PCE csoportban (2. táblázat). Ennek ellenére a szívfrekvencia (HR), az ejekciós frakció (EF) és a frakcionált rövidülés (FS) minden esetben a normál tartományban maradt. A myocardialis systoles sebességet ( $s'$ ) és a mitrális anulus síkirányú systoles kiterését (MAPSE) sem az atherogen diéta, sem az anthocyanin kezelés nem befolyásolta. Végül, de nem utolsósorban nem találtunk jelentős különbségeket a bal kamrai kiáramlási traktus (LVOT) paramétereiben, beleértve az átlagos és maximális kiáramlási sebességeket ( $V_{max}$ ,  $V_{mean}$ ) és a nyomásgrádienseket ( $maxPG$ ,  $meanPG$ ).

Paraméter	Kontroll	K+PCE	HC	HC+PCE
<b>Tei-index</b>	0,794 $\pm$ 0,044	0,779 $\pm$ 0,021	0,767 $\pm$ 0,050	0,764 $\pm$ 0,027
<b>HR</b> (ütés/perc)	174,4 $\pm$ 5,066	195,5 $\pm$ 5,726	153,4 $\pm$ 8,394	158,3 $\pm$ 4,040
<b>EF</b> (%)	65,09 $\pm$ 3,497	71,31 $\pm$ 2,690	63,38 $\pm$ 4,946	72,52 $\pm$ 1,896
<b>FS</b> (%)	33,55 $\pm$ 2,602	38,23 $\pm$ 2,107	32,88 $\pm$ 3,351	39,81 $\pm$ 1,677
<b><math>s'</math></b> (mm/s)	71,30 $\pm$ 4,858	77,62 $\pm$ 2,973	61,88 $\pm$ 4,951	70,86 $\pm$ 3,621
<b>MAPSE</b> (mm)	4,628 $\pm$ 0,175	4,507 $\pm$ 0,229	3,990 $\pm$ 0,289	4,955 $\pm$ 0,268
<b>GLS</b> (%)	-17,43 $\pm$ 1,036	-13,30 $\pm$ 0,800	-10,72 $\pm$ 1,121**	-16,83 $\pm$ 0,803###
<b>LVOT <math>V_{max}</math></b> (m/s)	1,027 $\pm$ 0,047	1,133 $\pm$ 0,046	1,119 $\pm$ 0,067	1,125 $\pm$ 0,039
<b>LVOT <math>V_{mean}</math></b> (m/s)	0,656 $\pm$ 0,027	0,725 $\pm$ 0,035	0,71 $\pm$ 0,036	0,69 $\pm$ 0,026
<b>LVOT <math>maxPG</math></b> (Hgmm)	4,284 $\pm$ 0,385	5,219 $\pm$ 0,423	5,109 $\pm$ 0,615	5,185 $\pm$ 0,378
<b>LVOT <math>meanPG</math></b> (Hgmm)	2,110 $\pm$ 0,180	2,417 $\pm$ 0,278	2,566 $\pm$ 0,264	2,453 $\pm$ 0,186

**2. táblázat.** Systoles és LVOT paraméterek összefoglalása. Minden adat átlag  $\pm$  SEM-ben van kifejezve (\*\*  $p < 0,01$  a Kontrollhoz képest; ###  $p < 0,001$  a HC csoporthoz képest).

### 5.1.3. Endothel-függő vasorelaxáció

A noradrenalin (NA) által kiváltott érgyűrű-összehúzódások szignifikánsan gyengébbek voltak a HC nyulakban a Kontroll csoporthoz képest 1  $\mu\text{mol/l}$  NA koncentrációnál. Minden kísérleti csoportban az acetilkolin (ACh) 1  $\mu\text{mol/l}$ -ig történő adagolása relaxációt idézett elő, míg magasabb ACh koncentrációk összehúzódást váltottak ki a preparátumokon. Az atherogen diéta szignifikánsan csökkentette az ACh által kiváltott relaxációt az aortagyűrűkben, miközben az ACh által kiváltott kontrakció megtartott maradt. Fontos kiemelni, hogy az alkalmazott PCE-kezelés nem befolyásolta az ACh-ra adott vascularis válaszokat (11. ábra). Az *ex vivo* vascularis mérés eredményei alapján megállapítottuk, hogy a nyulakban a koleszterindús étrend következtében jelentős endothel dysfunctio alakult ki, amelyet az orális PCE-kezelés nem tudott mérsékelni.

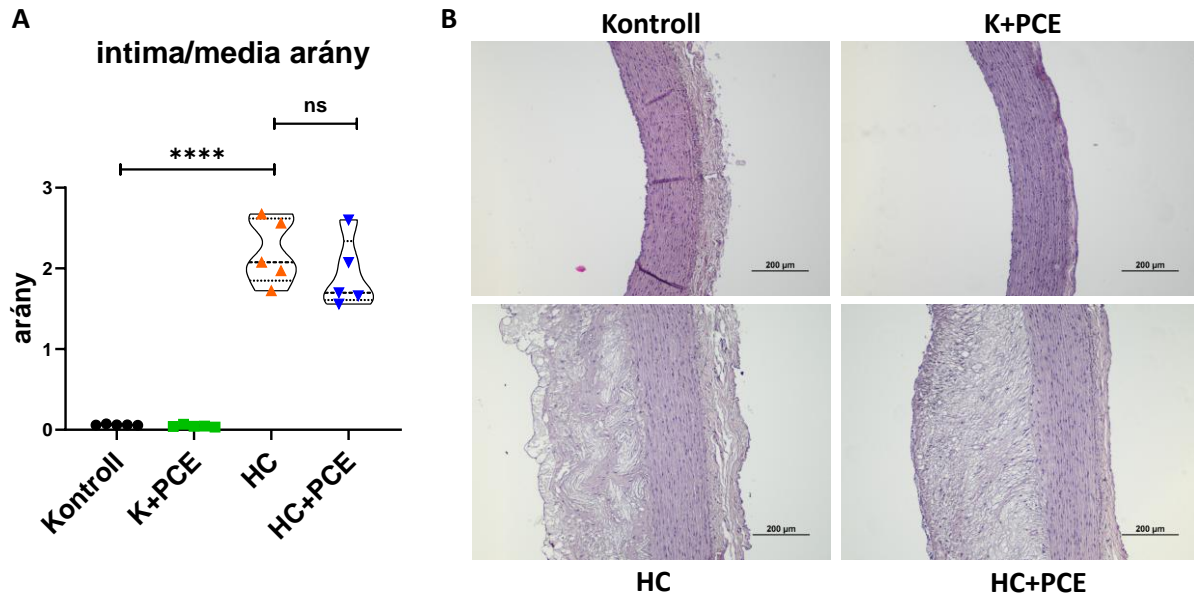


**11. ábra.** Az *ex vivo* endothel-dependens vasorelaxáció vizsgálatának eredményei. Az A) panelen a NA és a B) panelen az ACh hatása. Az adatok átlag  $\pm$  SEM-ben vannak ábrázolva. A csillagok a Kontroll és a HC csoportok közötti különbségek szignifikancia szintjét jelölik (\*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$ ).

### 5.1.4. Szövetani festés

A Kontroll és a K+PCE csoportok esetében sem a tunica intimában, sem a tunica mediában nem azonosítottunk eltéréseket. Ezzel szemben az atherogen diétán tartott állatok intima rétegének vastagsága jelentősen megnőtt a habos sejteket tartalmazó atherosclerotikus plaque-ok következtében. Az intima/media arányok szignifikánsan magasabbak voltak a HC és

a HC+PCE csoportban az egészséges Kontroll csoporthoz képest ( $p < 0,0001$ ). Nem találtunk szignifikáns különbséget a kezeletlen és a PCE-vel kezelt HC állatokból származó aorta minták között ( $p > 0,05$ ). A HE-festett aorták szövettani metszeteit a 12. ábra mutatja be.



**12. ábra.** A szövettani analízis eredményei. Az A) panelen a tunica intima/media hányadosok átlagértékei, a B) panelen az aorta thoracica reprezentatív képei láthatók a különböző kísérleti csoportokban (nagyítás: 10 ×). Az adatok átlag ± SEM-ben vannak megadva A csillagok a szignifikancia szintjét jelölik (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; ns: nem szignifikáns).

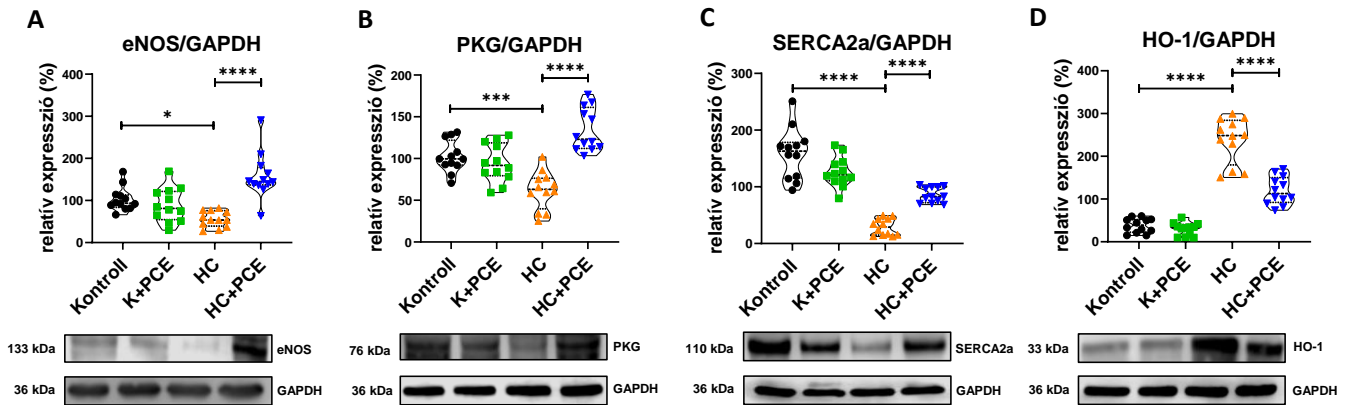
#### 5.1.5. Western blot

A cardiovascularis homeostasis négy kulcsfontosságú fehérjéjének bal kamrai szöveti expresszióját az 13. ábra szemlélteti. A HC nyulakban a myocardialis eNOS szint szignifikánsan alacsonyabb volt az egészséges Kontroll csoporthoz képest ( $p = 0,0190$ ). Hasonlóképpen, a PKG és a SERCA2a szintek esetében is szignifikáns különbségeket figyeltünk meg a Kontroll és a kezeletlen HC csoport között (PKG:  $p = 0,0005$ ; SERCA2a:  $p < 0,0001$ ). A HC+PCE nyulakban az eNOS, PKG és SERCA2a fehérjék expressziója szignifikánsan megnőtt a kizárólag koleszterindús diétán tartott csoporthoz képest (HC vs. HC+PCE: mindhárom fehérje esetében  $p < 0,0001$ ).

A Western blot analízis kimutatta, hogy a HO-1 szint jelentősen magasabb volt az atherogen diétán tartott nyulak myocardiumában, mint az egészséges Kontroll csoportban ( $p <$

0,0001). Ezen magas cardialis HO-1 expresszió a PCE-kezelés hatására szignifikánsan mérséklődött ( $p < 0,0001$ ).

Végezetül, egyik vizsgált fehérje esetében sem figyeltünk meg markáns különbséget a két egészséges csoport (Kontroll vs. K+PCE) között.

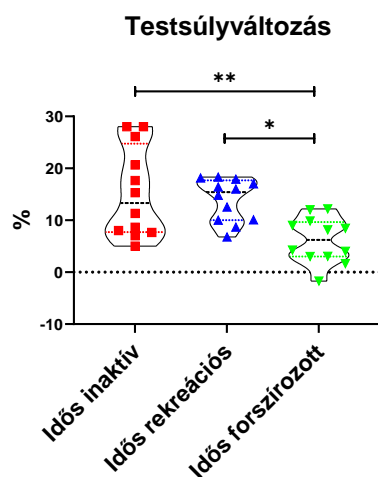


**13. ábra.** Western blot eredmények. Myocardialis eNOS (A), PKG (B), SERCA2a (C) és HO-1 (D) fehérjék expressziójának változása a kísérleti csoportokban. Minden adatot átlag  $\pm$  SEM értékben mutatunk be. A csillagok a szignifikancia szintjét jelölik (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ).

## 5.2. „Aging” patkány modell

### 5.2.1. Testsúlyváltozás

A statisztikai elemzés során azt tapasztaltuk, hogy a forszírozott testmozgást végző állatok testsúlygyarapodása kisebb volt, mint a mozgásszegény életmódot folytató és a rekreációs aktivitást végző csoportok esetében (Idős inaktív vs Idős forszírozott:  $p = 0,0038$ ; Idős rekreációs vs Idős forszírozott:  $p = 0,018$ ) (14. ábra).



**14. ábra.** Az idős állatok testsúlyának változása a 6 hónap során. Az adatokat átlag  $\pm$  SEM-ben adjuk meg. A csillagok a szignifikancia szintjét jelölik (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ).

#### 5.2.2. Szérum paraméterek

A második kísérlet labor eredményeit az 3. táblázat foglalja össze. Az összkoleszterin, LDL-C és HDL-C szintek szignifikánsan megemelkedtek az idős, inaktív csoportban a fiatal kontroll csoporthoz képest (minden esetben  $p < 0,0001$ ). Sem a rekreációs, sem a forszírozott testmozgás nem csökkentette a fent említett paraméterek szintjét. A trigliceridszint és a számított AIP értékek között sem voltak jelentős különbségek a kísérleti csoportokban. A májenzimek tekintetében az AST és ALT szintek szignifikáns emelkedést mutattak az idős, mozgásszegény életmódot reprezentáló csoportban a fiatal patkányokhoz képest (AST:  $p < 0,0001$ ; ALT:  $p = 0,0042$ ). A glükózsintek hasonló tendenciát mutattak ( $p = 0,0005$ ). Nem volt változás az állatok CRP, karbamid és kreatinin szintjében.

Szérum paraméter	Fiatall kontroll	Idős inaktív	Idős rekreációs	Idős forszírozott
<b>Összkoleszterin</b> (mmol/l)	1.843 $\pm$ 0.059	3.025 $\pm$ 0.137****	3.15 $\pm$ 0.171	3.156 $\pm$ 0.296
<b>LDL-C</b> (mmol/l)	0.3 $\pm$ 0.014	0.678 $\pm$ 0.035****	0.706 $\pm$ 0.059	0.621 $\pm$ 0.076
<b>HDL-C</b> (mmol/l)	1.266 $\pm$ 0.041	1.939 $\pm$ 0.109****	1.965 $\pm$ 0.118	2.039 $\pm$ 0.188
<b>Triglicerid</b> (mmol/l)	0.911 $\pm$ 0.074	1.066 $\pm$ 0.085	1.152 $\pm$ 0.078	1.21 $\pm$ 0.166
<b>Plazma atherogen index (AIP)</b>	0.718 $\pm$ 0.050	0.592 $\pm$ 0.085	0.619 $\pm$ 0.075	0.607 $\pm$ 0.071
<b>AST (GOT)</b> (U/l)	129.3 $\pm$ 7.875	200.3 $\pm$ 12.78****	172.1 $\pm$ 17.25	178.7 $\pm$ 13.66
<b>ALT (GPT)</b> (U/l)	51.95 $\pm$ 2.072	65.11 $\pm$ 3.201**	59.69 $\pm$ 3.430	59.21 $\pm$ 2.941
<b>CRP</b> (mg/l)	0.11 $\pm$ 0.019	0.143 $\pm$ 0.013	0.103 $\pm$ 0.028	0.116 $\pm$ 0.023
<b>Glükóz</b> (mmol/l)	5.35 $\pm$ 0.146	6.35 $\pm$ 0.144***	6.09 $\pm$ 0.405	6.15 $\pm$ 0.274
<b>Urea</b> (mmol/l)	5.857 $\pm$ 0.134	5.283 $\pm$ 0.288	5.31 $\pm$ 0.231	5.022 $\pm$ 0.198
<b>Kreatinin</b> ( $\mu$ mol/l)	29 $\pm$ 1.604	30.17 $\pm$ 1.272	32.3 $\pm$ 1.461	30.67 $\pm$ 1.041

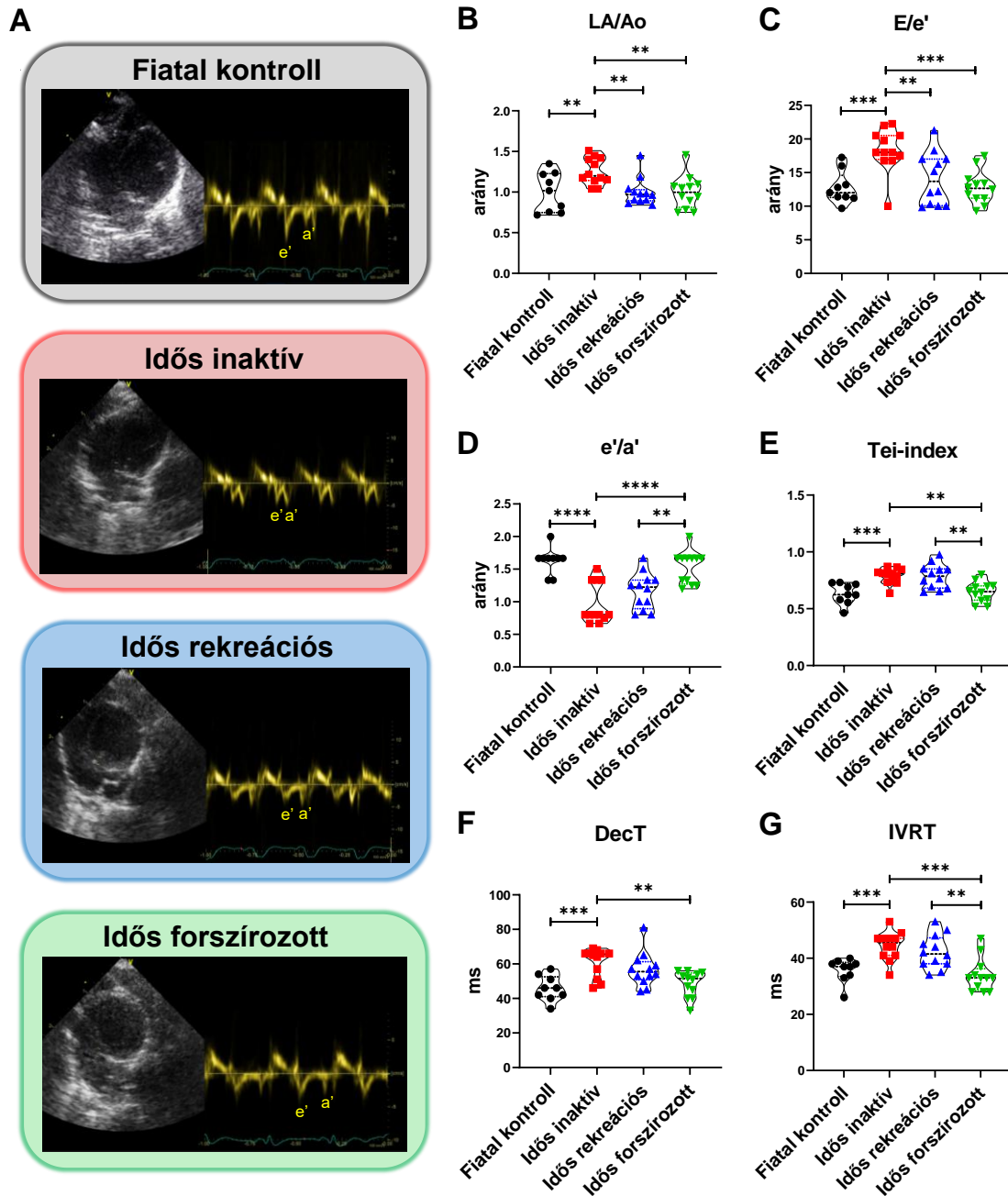
**3. táblázat.** Az „aging” patkány modell vérvételi eredményei. Minden adat átlag  $\pm$  SEM-ben van feltüntetve. A csillagok a szignifikancia szintjét jelölik (\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$  a fiatal csoporthoz képest).

### 5.2.3. Echocardiographia

Az echocardiographiás mérések eredményeit a 15. ábra szemlélteti. Az idős, fizikai aktivitást nem végző patkányoknál az életkorral összefüggő diastoles dysfunctio kifejezett jelei voltak megfigyelhetőek, úgymint megnövekedett LA/Ao és csökkent E/A arány (LA/Ao arány:  $p = 0,0089$ ; E/A arány:  $p < 0,0001$ , a fiatal kontroll állatokhoz viszonyítva). Az  $e'/a'$  arány csökkenése, valamint a DecT és az IVRT megnyúlása szintén kimutatható volt az idős, inaktív csoportban ( $e'/a'$  arány:  $p < 0,0001$ ; DecT:  $p = 0,0003$ ; IVRT:  $p = 0,0006$  a fiatal csoporthoz képest). Továbbá, ezekben az állatokban szignifikánsan megemelkedett Tei-indexet és  $E/e'$  arányt detektáltunk (Tei-index:  $p = 0,0003$ ;  $E/e'$  arány:  $p = 0,0004$ ). A systoles funkciókat illetően az EF és FS értékek jelentős csökkenését figyeltük meg az idős, fizikailag inaktív patkányoknál a fiatal csoporthoz viszonyítva (EF:  $p = 0,001$ ; FS:  $p = 0,0008$ ).

A bal kamra diastoles tevékenysége mindkét testmozgást végző csoportban javulást mutatott, azonban a változások markánsabbnak bizonyultak a forszírozott futást végző állatok esetében. A bal pitvar megnagyobbodása mérséklődött mindkét aktív csoportban az idős, inaktív életmódot szemléltető állatokhoz képest (mindkét esetben  $p = 0,0037$ ). Továbbá, a fizikai aktivitás szignifikánsan csökkentette az  $E/e'$  arány átlagát az inaktív idős patkányok eredményeihez viszonyítva (rekreációs:  $p = 0,0083$ ; forszírozott:  $p = 0,0006$ ). A forszírozott testmozgást végző patkányokban a DecT és az IVRT megnyúlása csökkent (DecT:  $p = 0,0032$ ; IVRT:  $p = 0,0002$ ), valamint a szöveti Doppler vizsgálat jelentős  $e'/a'$  arány növekedést mutatott ( $p < 0,0001$ ) az öreg, mozgást nem végző állatokhoz képest. Ez a mozgásforma csökkentette a Tei-indexet ( $p = 0,0013$ ) is, ami a globális kamrafunkció javulását jelezte.

Érdemes megjegyezni, hogy a két fizikai aktivitást végző csoport között is jelentős különbségek voltak három echocardiographiás paraméter tekintetében: a forszírozott mozgást végző patkányoknál magasabb  $e'/a'$  arányt, valamint kisebb Tei-indexet és IVRT-t állapítottunk meg, a rekreációs csoporthoz viszonyítva ( $e'/a'$  arány:  $p = 0,0084$ ; Tei-index:  $p = 0,0018$ ; IVRT:  $p = 0,0028$ ).



**15. ábra.** A diastoles funkciót reprezentáló echocardiographiás paraméterek, valamint reprezentatív szöveti Doppler-felvételek a septális mitrális gyűrű sebességéről ( $e'/a'$  arány). Az adatok átlag  $\pm$  SEM értékben vannak feltüntetve. A csillagok a szignifikancia szintjét jelölik (\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ).

A három idős csoport esetében a szívfrekvencia, az ejekciós frakció és a frakcionált rövidülés értékei nem különböztek szignifikánsan. Végül, de nem utolsósorban, nem volt jelentős eltérés

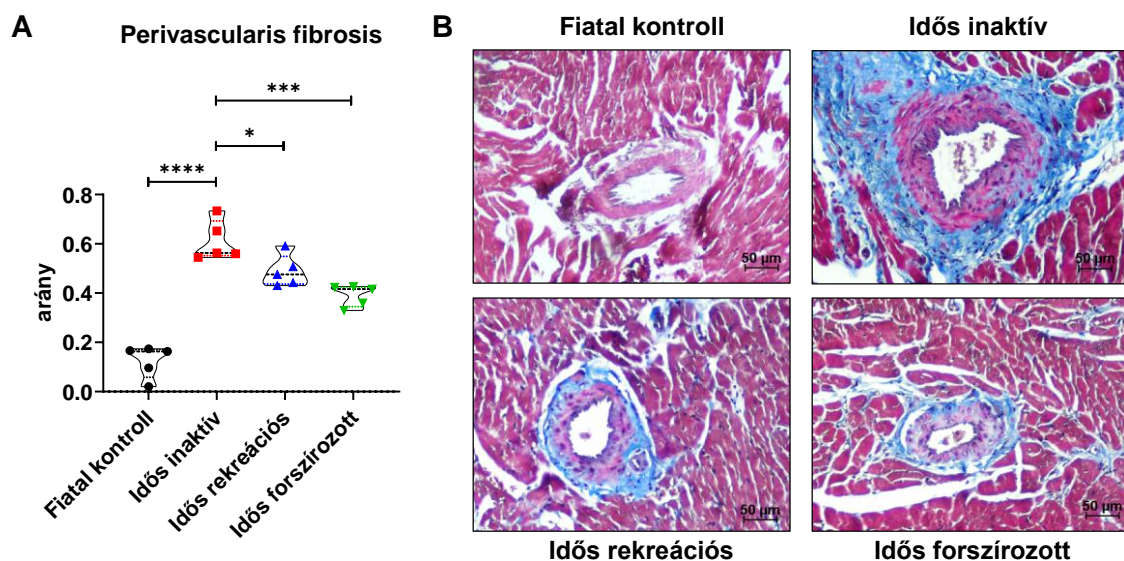
a kísérleti csoportok bal kamra kiáramlási traktusának (LVOT) paramétereiben sem (4. táblázat).

Paraméter	Fiatall kontroll	Idős inaktív	Idős rekreációs	Idős forszírozott
HR (ütés/perc)	216,9 ± 6,969	223,7 ± 4,152	216,8 ± 3,958	216,1 ± 9,668
EF (%)	89,00 ± 1,658	78,18 ± 2,097**	79,75 ± 1,931	81,91 ± 2,047
FS (%)	55,22 ± 2,548	42,64 ± 1,918***	44,08 ± 1,848	46,64 ± 1,922
s' (mm/s)	0,046 ± 0,002	0,044 ± 0,002	0,046 ± 0,002	0,045 ± 0,003
MAPSE (mm)	2,191 ± 0,066	2,327 ± 0,108	2,364 ± 0,107	2,241 ± 0,109
LVOT Vmax (m/s)	0,772 ± 0,034	0,792 ± 0,041	0,909 ± 0,028	0,861 ± 0,034
LVOT Vmean (m/s)	0,442 ± 0,016	0,493 ± 0,031	0,571 ± 0,022	0,512 ± 0,022
LVOT maxPG (Hgmm)	2,418 ± 0,214	2,566 ± 0,292	3,235 ± 0,172	3,007 ± 0,238
LVOT meanPG (Hgmm)	1,011 ± 0,069	1,216 ± 0,142	1,630 ± 0,117	1,323 ± 0,105

**4. táblázat.** Az „aging” patkány modell systoles és LVOT paramétere. Az adatok átlag ± SEM értékben vannak megadva. A csillagok a szignifikancia szintjét jelölik (\*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001 a fiatal kontroll csoporthoz viszonyítva).

#### 5.2.4. Szövettan

Az öregedés perivascularis fibrosist idézett elő a patkányok myocardiumában, amelyet a szignifikánsan magasabb perivascularis fibrosis arány (PFR) segítségével detektáltunk az idős, testmozgást nem végző csoportban a fiatal kontrollokhoz képest (p < 0,0001). Tanulmányunk egyik fontos eredménye, hogy mind az önkéntes, mind a forszírozott testmozgás szignifikánsan mérsékelte az erek körüli kötőszövetes lerakódást (rekreációs: p = 0,0294; forszírozott: p = 0,0005 az inaktív állatokhoz képest). A PFR esetében nem volt különbség a két testmozgást végző csoport állatai között (16. ábra).



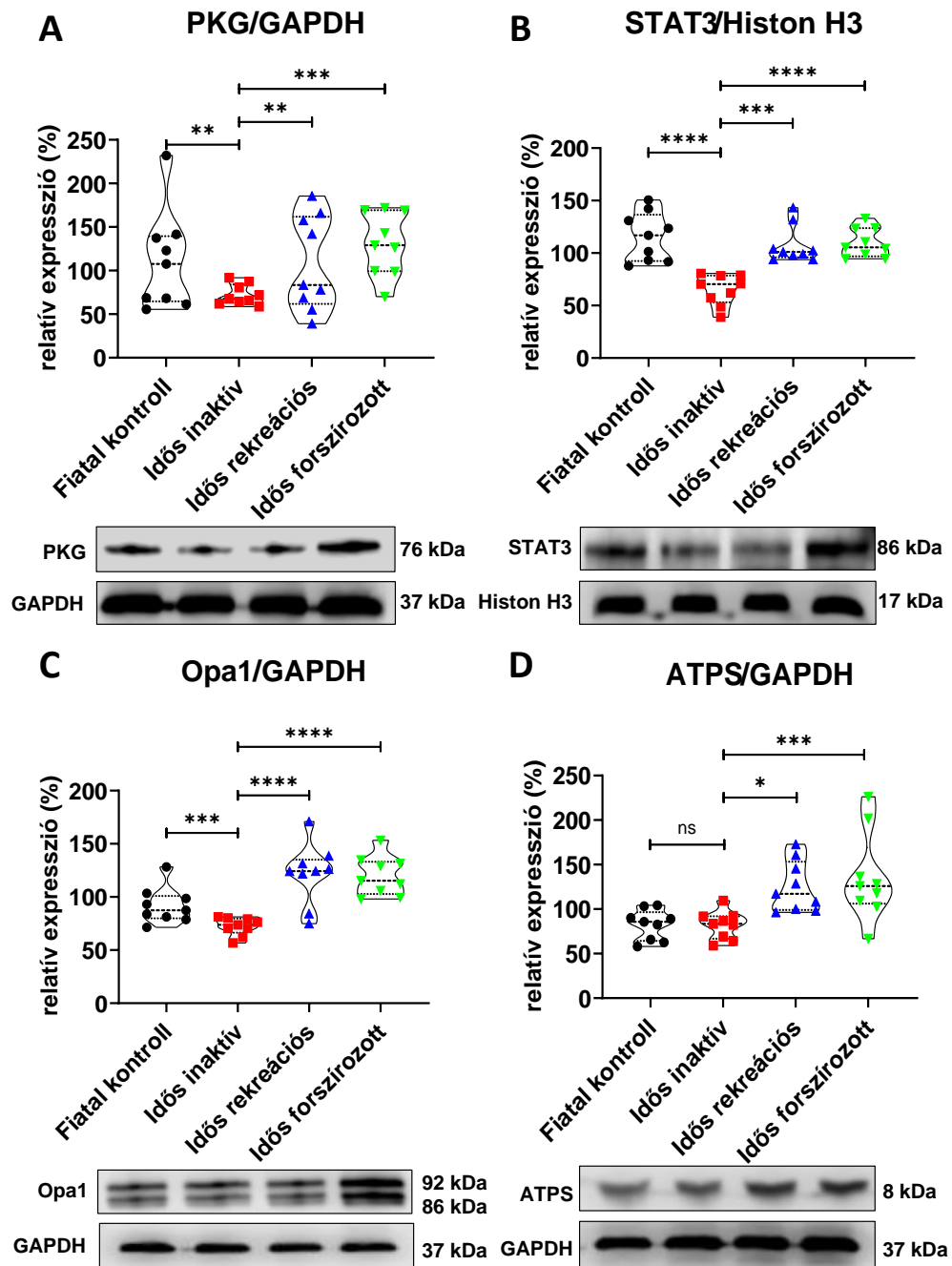
**16. ábra.** A myocardium minták szövettani elemzése. (A) Az ábra a perivascularis fibrosis arányt (PFR) mutatja. (B) A fibrotikus szövet perivascularis felhalmozódásának reprezentatív képei (nagyítás: 10 ×). Az adatokat átlag ± SEM-ben adtuk meg. A csillagok a szignifikancia szintjét jelölik (\*  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ).

#### 5.2.5. Western blot

A Western blot analízis kimutatta a PKG-STAT3-Opa1 tengely életkorral összefüggő downregulációját (17. ábra). Ezeknek a fehérjéknek a szívizomban mért expressziója csökkent a testmozgást nem végző idős csoportban a fiatal kontroll patkányokhoz képest (PKG:  $p = 0,0092$ ; STAT3:  $p < 0,0001$ ; Opa1:  $p = 0,0005$ ). A jelátviteli útvonal károsodása fizikai aktivitás esetén reverzibilisnek bizonyult, hiszen az expressziós szintek mindhárom fehérje esetében szignifikánsan magasabbak voltak a felszírozott és rekreációs mozgást végző csoportokban, mint a nem sportoló idős állatokban (PKG: mozgásszegény vs rekreációs:  $p = 0,0060$ , mozgásszegény vs felszírozott:  $p = 0,0007$ ; STAT3: mozgásszegény vs rekreációs:  $p = 0,0002$ , mozgásszegény vs felszírozott:  $p < 0,0001$ ; Opa1: mindkét esetben  $p < 0,0001$ ).

Továbbá, az ATP-synthase expressziójának különbségeit is vizsgáltuk. Érdekes módon a fiatal, egészséges és az inaktív idős csoportok között nem figyeltünk meg jelentős különbséget ( $p = 0,3686$ ). A rekreációs és a rendszeres, felszírozott futás viszont szignifikánsan növelte az ATPs szintjét (mozgásszegény vs rekreációs:  $p = 0,0285$ ; mozgásszegény vs felszírozott:  $p = 0,0002$ ).

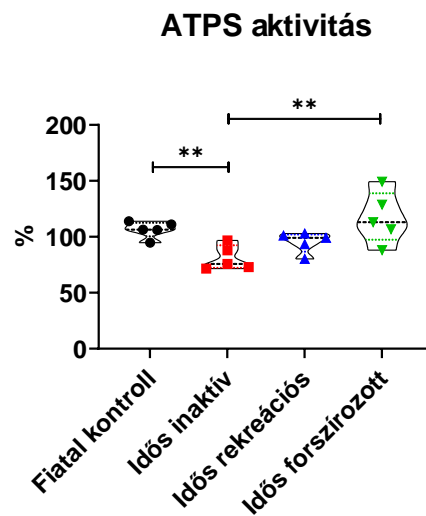
Megjegyzendő, hogy egyik vizsgált fehérje esetében sem mutatkozott szignifikáns különbség a két fizikai aktivitást végző csoport között.



17. ábra. A PKG-STAT3-Opa1 útvonal (A-C) és az ATP5A1 (D) Western blot eredményei. Minden adatot átlag  $\pm$  SEM-ben mutatunk be. A csillagok a szignifikancia szintjét jelölik (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ )

### 5.2.6. ATPS aktivitás

Szignifikáns csökkenést figyeltünk meg az inaktív életformát reprezentáló idős patkányok ATPS aktivitásában, a fiatal csoporthoz képest ( $p = 0,0026$ ). Az adatok összehasonlításából származó legszembetűnőbb eredmény az volt, hogy az idősebb korban elkezdett forszírozott fizikai aktivitás jelentősen növelte az ATPS aktivitását az idős, testmozgást nem végző állatokhoz képest ( $p = 0,0086$ ). Ugyanakkor, a rekreációs tevékenység nem gyakorolt szignifikáns hatást az ATPS aktivitására az öregedés során (18. ábra).



**18. ábra.** Az ATPS microplate assay eredményei. Minden adatot átlag  $\pm$  SEM-ben ábrázoltunk. A csillagok a szignifikancia szintjét jelölik (\*\*  $p < 0,01$ ).

## 6. Megbeszélés

A cardialis (különösen a diastoles) dysfunctio és az annak következményeként kialakuló szívelégtelenség terápiája mai napig megoldásra váró klinikai probléma. A globálisan előforduló helytelen táplálkozási szokások, valamint a társadalom elöregedése következtében a fentebb említett kórállapotok előfordulása folyamatosan növekedni fog, jelentős terhet róva a világ gazdaságára és egészségügyi ellátórendszerére. Kutatócsoportunk elsődleges célja az volt, hogy kísérletes állatmodellek segítségével tanulmányozzuk e két társadalmi kihívás cardiovascularis hatásait, valamint olyan természetes módszerek, mint a testmozgás és az anthocyaninok alkalmazásával kísérletet tegyünk a pathofiziológiai folyamatok mérséklésére. Hangsúlyozandó, hogy a fizikai aktivitást és az anthocyaninokat nem megelőző, hanem terápiás céllal, a már kialakult szív- és érrendszeri eltérések kezeléseként vizsgáltuk. Mindkét tanulmány során először funkcionális méréseket végeztünk, majd a kapott eredményeket molekuláris és szövettani módszerekkel támasztottuk alá. Kísérleteinkben olyan molekuláris útvonalakat vizsgáltunk, amelyek modulációja terápiás potenciállal bírhat az atherosclerosis és az öregedéssel összefüggő cardialis dysfunctio kezelésében.

Első kísérletünkben a hosszútávú per os anthocyanin kezelés hatását vizsgáltuk hypercholesterinaemia és következményes atherosclerosis talaján kialakuló cardialis dysfunctioban, nyúl modell segítségével. A nyulak rendkívül érzékenyek az atherogen étrendre, hiszen természetesen magas koleszterin-észter-transzfer protein (CETP) aktivitással, valamint - a főemlősökhöz hasonlóan - magas LDL-C és alacsony HDL-C profillal rendelkeznek [127, 128]. Továbbá, ezen állatok myocardiumának elektrofiziológiai, mechanikai és szerkezeti jellemzői, az ioncsatornák szerkezete, a coronariák felépítése, az ischaemiára és különféle gyógyszerekre adott válasza nagyobb mértékben hasonlít a humánban tapasztaltakhoz, mint más rágcsálók esetében [129]. Végül pedig a nyulaknál és az embereknél is a miozin nehéz lánc  $\beta$  izoformája a domináns.

A nyúl modell echocardiographiás mérései során azt tapasztaltuk, hogy a hypercholesterinaemiás csoport esetében diastoles dysfunctio alakult ki. Szignifikánsan csökkent  $E/A$  és  $e'/a'$  arányokat, valamint megnyúlt decelerációs időt (DecT) és izovolumetriás relaxációs időt (IVRT) detektáltunk, amelyek a bal kamra elégtelen relaxációjára és ennek következtében korlátozott kamrai telődésre utalnak [82]. A bal kamrai töltőnyomás emelkedését jelezte a HC állatok szignifikánsan nagyobb  $E/e'$  aránya, amely egyértelműen megerősítette a diastoles dysfunctio diagnózisát [130]. A magas töltőnyomásra válaszul a  $LA/Ao$  arány növekedésével reprezentált bal pitvari tágulatot is megfigyeltük, hiszen ezekben az esetekben a

bal pitvarban megnő a nyomás a megfelelő kamrai telődés fenntartása érdekében, ami a pitvar falának feszüléséhez és így az üreg tágulásához vezet [131]. Ennek következményeképpen megnő a pitvarfibrilláció és a thromboemboliás események kockázata, valamint a nyomásfokozódás visszaterjed a pulmonalis vénákba és légszomjhoz, csökkent fizikai teljesítőképességhez vezethet. Bár az ejekciós frakció (EF), a frakcionált rövidülés (FS) és a csúcssystemolysis myocardialis sebesség ( $s'$ ) értékei a normál tartományban maradtak, a systoles kamrafunkció jellemzésére szolgáló global longitudinal strain (GLS) változása - érzékenyebb paraméter révén - előre vetíti a feltételezhetően később kialakuló, pumpafunkcióban bekövetkező hanyatlást.

A 12 hetes anthocyanin-kezelés a cardialis funkció javulásához vezetett, amit az emelkedett  $e'/a'$  arány, a LA/Ao és E/ $e'$  arányok csökkenése, valamint a decelerációs idő és a GLS normalizálódása jellemzett, utalva arra, hogy az alkalmazott meggykivonat (*Prunus cerasus* extraktum, PCE) jelentős pozitív hatást gyakorolt a myocardium működésére. Érdekes, hogy vizsgálatunkban a globális myocardialis teljesítményt jellemző Tei-index értékében nem mutatkozott számottevő eltérés a csoportok között. Ugyanakkor, Bruch és munkatársai beszámoltak arról, hogy a Tei-index diagnosztikai értéke korlátozott koszorúér-betegségben (CAD) szenvedő, elsődlegesen diastoles dysfunctionnal rendelkező egyének esetében [132]. Echocardiographiás eredményeink összegzése alapján megállapíthatjuk, hogy az anthocyaninokban gazdag *Prunus cerasus* kivonat hatékonyan mérsékelte az atherogen diéta által kiváltott cardialis funkciózavart.

A szérum paraméterek elemzését a cardiovascularis betegségek súlyosságának becslésére alkalmas indikátorok értékelése céljából végeztük el. A lipidstatusban markáns eltérések alakultak ki az atherogen táp hatására, mivel a HC csoportban az atherogen index, valamint az összkoleszterin-, LDL-C- és HDL-C-szintek szignifikáns emelkedést mutattak az egészséges Kontrollokhoz képest. Ezek az eredmények összhangban állnak korábbi szakirodalmi adatokkal [133], valamint a vizsgálat alapjául szolgáló pathofiziológiai folyamat kiindulópontját is jelentik, hiszen a hypercholesterinaemia alapvető szerepet játszik az endothel károsodás és az atherosclerosis kialakulásában. Ugyanakkor, a *Prunus cerasus* extraktummal (PCE) kezelt csoportban a lipidprofil normalizálódását figyeltük meg, különösen az összkoleszterin, az LDL-C és az atherogen index tekintetében, ami a már fennálló lipidanyagcsere-zavar farmakológiai modulációjára utal. Több korábbi tanulmány is hasonló következtetésre jutott, megerősítve a per os anthocyanin bevitel hypercholesterinaemiára kifejtett előnyös hatását [104]. Bár további vizsgálatok szükségesek a hatásmechanizmus feltárására, feltételezzük, hogy az alkalmazott meggykivonat gátló hatást fejtett ki a CETP

aktivitására [103]. A CK-MB szintek nem mutattak szignifikáns eltérést az egyes kísérleti csoportok között, ami arra enged következtetni, hogy a vizsgált folyamat nem progrediált olyan mértékben, hogy szívizomkárosodás és ennek következtében necroenzim felszabadulás legyen megfigyelhető.

A magas koleszterinbevitel következtében kialakuló vascularis eltéréseket mellkasi aorta mintákon *ex vivo* funkcionális vizsgálat és szövettani festés segítségével azonosítottuk. A HC nyulakban az Ach által kiváltott endothel-dependens vasorelaxáció jelentősen károsodott, ami endothel dysfunctionra és egyben a nitrogén-monoxid szintézis zavarára utal. Ez az eredmény összhangban van Ludmer és munkatársai klasszikus megfigyelésével, miszerint érlemeszesedés esetén az artériák válaszkészsége az Ach-stimulációra jelentősen csökken [55]. Az aorta thoracica szövettani vizsgálata a funkcionális eltérésnek megfelelő kiszélesedett tunica intimát és kiterjedt atheromatosus plaque-okat igazolt. Mindezek tükrében megállapítható, hogy a hypercholesterinaemia és az annak nyomán kialakuló endothel dysfunctio szorosan összefüggő folyamatokat alkotnak, amelyek együttesen hozzájárulnak a vascularis homeostasis felborulásához. Fontosnak tartom megemlíteni tanulmányunk egyik limitációjaként, hogy bár az érlemeszesedés meglétét jelen modellben a mellkasi aortában igazoltuk, szakirodalmi adatok alapján valószínűsíthető, hogy a kórfolyamat a koszorúerekre is kiterjedt [134], melynek fényében feltételezhető, hogy a coronáriákban is endothel dysfunctio alakult ki. Habár a PCE kezelés a lipidprofilra és a cardialis funkciózavarra kedvezően hatott, a vascularis struktúrák szintjén eredménytelennek bizonyult. A tény, hogy az anthocyanin kezelés nem csökkentette az atherosclerosis mértékét és így nem javította a vascularis statust, a szerkezetileg már súlyosan károsodott érfali integritás reverzibilitásának hiányára utal. E megfigyelések alapján feltételezhető, hogy a PCE által közvetített hatások szövetspecifikusak lehetnek és elsősorban a myocardium szintjén érvényesülnek, míg a már előrehaladott atheromás elváltozásokkal jellemezhető érfalak esetében terápiás hatékonysága korlátozott.

A NO–cGMP–PKG jelátviteli útvonal károsodása a diastoles dysfunctio egyik központi pathofiziológiai mechanizmusaként ismert [135], ezért tanulmányunk során Western blot technikával elemeztük e cardioprotektív molekuláris tengely legfontosabb komponenseinek expresszióját. Az útvonal egyik fő downstream targetjeként számon tartott SERCA2a alapvető szerepet tölt be a diastole során, hiszen eltávolítja a  $Ca^{2+}$ -okat a cytoplasmából, ezáltal biztosítva az optimális relaxációt. Huang és munkatársai kimutatták, hogy a hypercholesterinaemia által kiváltott szívfunkciós eltérések a myocardialis SERCA2a szint és aktivitás csökkenésével is összefüggésbe hozhatók [136]. Eredményeink szerint a HC állatok bal kamrai mintáiban az eNOS, a PKG, valamint a SERCA2a kifejeződése szignifikánsan alacsonyabb volt, mint az

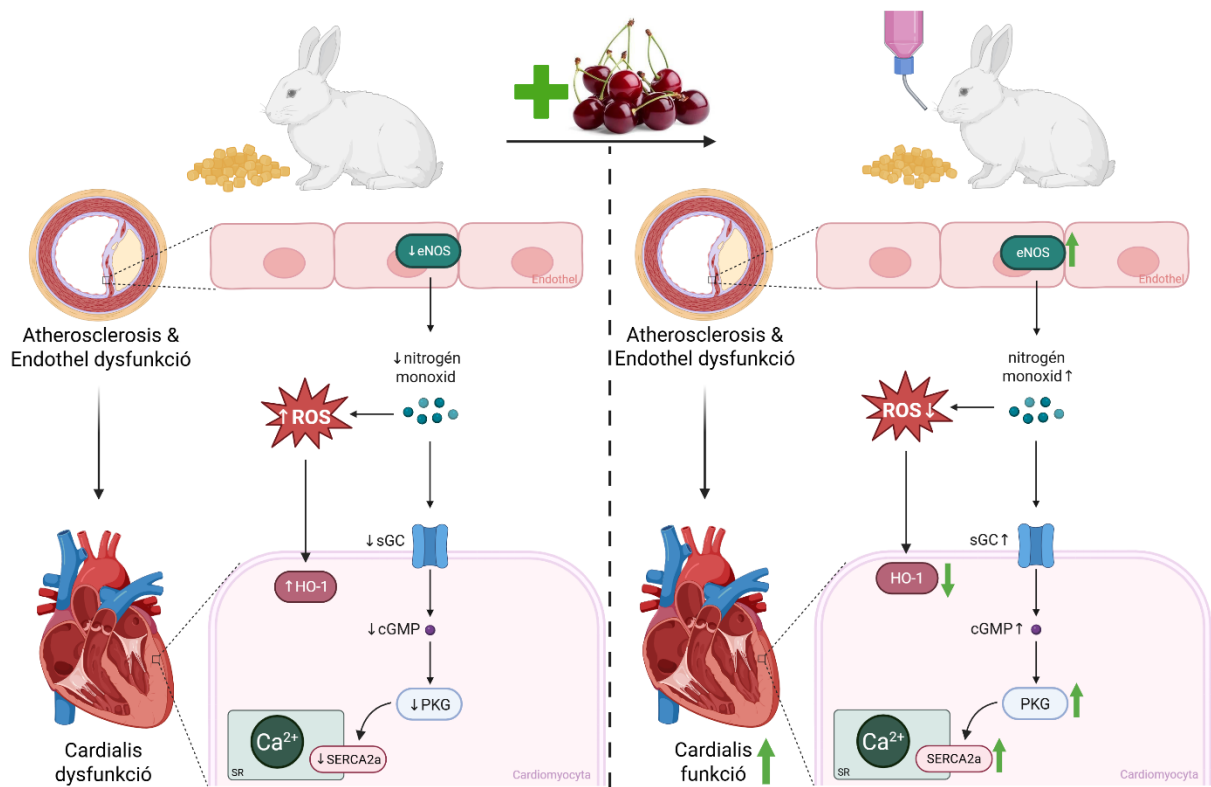
egészséges Kontroll csoportban, amely a NO–cGMP–PKG útvonal atherosclerosisral összefüggő, myocardialis downregulációjára utal. Ezen molekuláris szintű eltérések alátámasztják az echocardiographiával megállapított diastoles dysfunctiót.

A PCE szívizomra kifejtett molekuláris hatásainak tanulmányozásakor azt tapasztaltuk, hogy az anthocyaninokkal kezelt HC csoport bal kamráiban az eNOS, PKG és SERCA2a fehérjék expressziója szignifikánsan emelkedett a kezeletlen HC csoporthoz viszonyítva, amely molekuláris szinten is megerősíti a diastoles funkcióban bekövetkező javulást. Az anthocyaninok eNOS-indukáló hatását korábbi tanulmányok is megerősítették [137, 138]. Eredményeink rávilágítanak arra, hogy a PCE eNOS expressziót fokozó hatása révén serkenti a NO–cGMP–PKG útvonal aktivitását, ezáltal hozzájárul a cardioprotektív hatás kialakulásához. Ezt a hipotézist támasztják alá Quintieri és munkatársainak eredményei is, akik megállapították, hogy az anthocyaninok a NO–cGMP–PKG útvonal közvetítésével védnek az ischaemia/reperfúziós károsodás ellen [139]. Különös figyelmet érdemel, hogy a PCE által kiváltott diastoles funkciójavulás a SERCA2a expresszió emelkedésével is együtt járt, amely új aspektust nyit az anthocyaninok myocardialis hatásmechanizmusainak értelmezésében. Összességében elmondható, hogy a vizsgálat eredményei egyértelműen alátámasztják kutatócsoportunk felvetését, miszerint az alkalmazott meggyhús-kivonat kedvező hatást gyakorol az atherosclerosisral társult cardialis dysfunctio esetén, elsősorban a myocardialis NO–cGMP–PKG jelátviteli útvonal upregulációja és a SERCA2a downstream target expressziójának fokozása révén.

A HO-1 myocardialis kifejeződésének változását is vizsgáltuk Western blot segítségével, hiszen a stresszfehérje kiemelkedő szerepet tölt be a sejtek homeostasisának helyreállításáért felelős védekező mechanizmusok között, elsősorban oxidatív stressz és gyulladáshoz vezető folyamatok elleni cytoprotektív hatásai révén [41]. Szakirodalmi adatok alapján a hypercholesterinaemia szoros kapcsolatban áll a myocardiumban kialakuló fokozott oxidatív stresszel [140], amely több tanulmány szerint a HO-1 expressziójának indukciójához vezet [141]. Ennek megfelelően vizsgálatunk során emelkedett HO-1 expressziós mintázatot figyeltünk meg a koleszterinben gazdag tápon tartott nyulak bal kamrájában. Tanulmányunk egyik meglepő eredménye, hogy a PCE-vel kezelt hypercholesterinaemiás állatok myocardiumában a HO-1 expressziója csökkenést mutatott. Ez egyfelől ellentmond azon korábbi kísérletes tapasztalásoknak, amelyek szerint a flavonoidokban gazdag növények HO-1 induktorként eredményeznek kedvező cardiovascularis hatásokat [142]. Ugyanakkor, megfigyeléseink összhangban állnak azzal az újabb tudományos szemlélettel, amely szerint a HO-1 enzim korábban egyértelműen protektívnek tartott szerepét újraértékelni szükséges,

mivel az expresszió mértéke és körülményei egyaránt meghatározó szereppel bírnak [143]. Kimutatták például, hogy a HO-1 túlzott myocardialis expressziója – különösen öregedés vagy fokozott nyomásterhelés mellett – a szívelégtelenség súlyosbodásához vezethet [144]. A kísérletben detektált HO-1 expresszió csökkenésének pontos mechanizmusa egyelőre nem tisztázott, azonban feltételezzük, hogy az anthocyaninok és a koleszterin-anyagszere közötti komplex kölcsönhatásokkal magyarázható. Valószínűsíthető, hogy az anthocyanin kezelés következtében mérséklődő myocardialis oxidatív stressz – amely a lipidprofil javulásának és az LDL-koleszterin szintjének szignifikáns csökkenésének tulajdonítható – okán „szükségtelemmé” vált a HO-1 túlzott indukciója. Tekintettel arra, hogy a HO-1 expresszió szorosan összefügg a hypercholesterinaemia fennállásának időtartamával és súlyosságával, a lipidprofil kedvező irányú befolyásolása önmagában is expressziócsökkenést eredményezhet. Alternatív magyarázatként felvethető az is, hogy a PCE a szívizomban olyan másodlagos jelátviteli útvonalakat modulált, amelyek szintén befolyásolják a HO-1 expressziót, ezért a pontos hatásmechanizmus feltárása további célzott vizsgálatokat igényel.

Ezen kísérletünk eredményeinek összegzéseként megállapítható, hogy a 12 héten át alkalmazott, anthocyaninokban gazdag *Prunus cerasus* extraktum (PCE) kezelést követően a myocardium szövetében bekövetkező NO–PKG jelátviteli útvonal aktivációja, valamint a SERCA2a fehérje expressziójának fokozódása szignifikánsan mérsékelte az atherogen diéta által indukált, már fennálló cardialis dysfunctiót. Az a tény, hogy a vascularis statusban érdemi javulás nem volt kimutatható, arra enged következtetni, hogy a PCE hatása szervspecifikusan, elsősorban a cardialis szövetállományra koncentrálódik. E protektív hatások alapján feltételezhető, hogy az étrendi anthocyaninok célzott terápiás lehetőséget kínálhatnak az atherosclerosisához társuló szívfunkciós zavarok modulálására. Továbbá, eredményeink alátámasztják azt az egyre inkább előtérbe kerülő szemléletet, amely szerint a HO-1 túlzott expressziója – noha alapvető szerepet játszik a sejtes homeostasis fenntartásában – potenciálisan „kétélű kard” lehet és bizonyos patológiás körülmények között káros következményekkel is járhat.



19. ábra. Az atherosclerotikus nyúl modellen végzett kísérlet összefoglalása.

Második kísérletünkben öregedő („aging”) patkány modell segítségével hasonlítottuk össze az időskorban elkezdett, hosszú távon végzett rekreációs és erőltetett testmozgás cardialis hatásait. Az utóbbi évtized kutatásai jelentős összefüggést találtak a mitokondriális dysfunctio, az öregedés és a szívelégtelenség kialakulása között. Ebből kiindulva olyan molekuláris útvonal tanulmányozását tűztük ki célul, melynek fehérjéi révén mind a cardialis dysfunctio, mind a mitokondriális zavar tanulmányozása megvalósulhat az öregedés kontextusában.

Ebben a tanulmányban a szérumparáméterek analízise jelentős mértékű lipidprofil-romlást tárt fel az időskorú csoportokban, amelyet az összkoleszterin, LDL-C és HDL-C szintek emelkedése jellemzett. Ezen megfigyelések összhangban állnak korábbi szakirodalmi adatokkal, amelyek az öregedéshez társuló, multifaktoriális eredetű hypercholesterinaemia jelenlétét dokumentálják [145, 146]. Meglepő módon sem a rekreációs, sem a forszírozott fizikai aktivitás nem bizonyult elegendőnek az életkorhoz társuló magas koleszterinszint mérséklésére. Ennek háttérében vélhetően az öregedési folyamat által indukált lipidanyagcsere-változások állhatnak, amelyek következtében az idős szervezet csökkent mértékben reagál az életmódbeli intervenciókra [147]. E ponton fontosnak tartom kiemelni kísérletünk egyik limitációját, miszerint a patkány, mint laboratóriumi állatmodell nem tekinthető teljes

mértékben relevánsnak a dyslipidaemia élettani és kórélettani aspektusainak vizsgálatára [128]. A morfometriai adatok értékelése szintén megerősítette a korábbi kutatások eredményeit: a forszírozott edzésprogramban résztvevő állatok testsúlygyarapodása szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult az inaktív idős és a rekreációs aktivitást végző állatokhoz viszonyítva [148]. Ezen eredmények alapján feltételezhető, hogy a rendszeres, kontrollált fizikai terhelés időskorban hatékonyabb lehet a testtömeg-reguláció szempontjából, mint a spontán jellegű mozgásformák.

A cardialis status elemzése során célul tűztük ki, hogy azonosítsuk azokat a funkcionális és strukturális myocardialis elváltozásokat, amelyek kizárólag az öregedési folyamat következtében, egyéb kockázati tényezők fennállása nélkül alakulnak ki. Ezen eltérések megállapítására először a 12 hetes fiatal és a 24 hónapos idős csoportokat hasonlítottuk össze. Az echocardiographiás vizsgálatok alapján a 2 éves patkányok esetében szignifikánsan csökkent E/A és e'/a' arányokat, valamint megnyúlt decelerációs időt (DecT) és izovolumetriás relaxációs időt (IVRT) regisztráltunk, melyek együttesen a bal kamra relaxációs zavarára utalnak. A szívizomszövet elégtelen relaxációja következtében megnő a bal kamrai töltőnyomás, amit az E/e' arány emelkedése jelez és a diastoles dysfunctio egyik legfontosabb haemodinamikai jellemzője [130]. Végző soron ez a végdiastoles nyomás fokozódásához vezet, így a bal pitvar fokozott nyomásterhelésnek van kitéve, ami strukturális átalakulást, elsősorban pitvari dilatációt (magasabb LA/Ao arányt) eredményez. Az ezen paraméterekben mutatkozó eltérések meggyőző bizonyítékul szolgálnak arra, hogy a 24 hónapos, testmozgást nem végző idős állatokban diastoles dysfunctio alakult ki [82]. Eredményeink összhangban állnak Rowe és munkatársai eredményeivel, akik a 3 és 24 hónapos patkányok összehasonlítása során az életkor előrehaladtával fokozódó diastoles funkcióromlást észleltek [149].

A fizikai aktivitás hatásainak értékelésekor mind a rekreációs, mind a forszírozott edzésprotokoll javulást eredményezett két diastoles paraméter tekintetében, a bal kamrai töltőnyomás (E/e' arány) és a bal pitvari tágulat (LA/Ao arány) csökkentése révén. Ugyanakkor kiemelendő, hogy az e'/a' arány emelkedése, valamint az IVRT és DecT normalizálódása kizárólag a strukturált, forszírozott testmozgás esetén volt kimutatható, jelezve, hogy a myocardium relaxációs képességének javulása kizárólag ebben a csoportban volt detektálható [7, 150]. Egy korábbi tanulmány szintén markáns javulást írt le 24 hónapos patkányok diastoles szív működésében 12 hetes futópados tréning után [151]. Továbbá, a globális bal kamrai systoles és diastoles funkció integrált mutatójaként szolgáló Tei-index vonatkozásában a forszírozott mozgásra válaszul mért csökkenés összhangban áll Cho és társai megállapításaival, akik idős egérmodellen végzett erőltetett fizikai aktivitás során hasonló kedvező eltéréseket detektáltak

[152]. Echocardiographiás eredményeink alapján elmondható, hogy az öregedéssel összefüggő diastoles funkcióromlás jelentős mértékben javítható rendszeres testmozgással, különösen a forszírozott edzésprogramok révén.

Az „aging” patkány modellben a szövettani elemzés során megfigyelt jelentős myocardialis kollagén felszaporodás – különösen az erek perivascularis régiójában – tovább erősíti az életkorhoz társuló strukturális remodeláció megjelenését, amelyet az is alátámaszt, hogy ezen elváltozások teljes mértékben hiányoztak a fiatal kontroll csoportban. A fibrosis következményeként kialakuló bal kamrai rigiditást, valamint a relaxációs fázis prolongációját a fentebb részletezett echocardiographiás paraméterek is igazolják [153]. Hisztológiai eredményeink összhangban vannak Reed és munkatársai megfigyeléseivel, akik idősödő egérmódelben igazolták a fokozott cardialis fibrosis és a diastoles zavar közötti összefüggést [154]. Horn és Trafford tanulmányukban szintén rámutattak a perivascularis fibrosis és a szív öregedési folyamata közötti kapcsolatra [155], melynek háttérében feltételezhetően jelen esetben is az áll, hogy a perivascularis kötőszövet-felhalmozódás hozzájárulhat a coronaria mikrocirkuláció zavarához, amely tovább fokozhatja a cardiomyocyták öregedési folyamatát [156].

Szövettani eredményeink alapján mindkét mozgásforma csökkenti a perivascularis fibrosis mértékét, így feltételezhetően fokozzák a mikrocirkulációs perfúziót. Egy 2017-es vizsgálatban 20 hónapos patkányok esetében 10-12 hetes edzésprogram után jelentős javulást írtak le a diastoles és endothelialis funkciók tekintetében, alátámasztva, hogy a testmozgás elősegítheti a myocardium relaxációs kapacitásának és a coronariák megfelelő vérellátásának fokozódását az öregedő szívben [157].

A molekuláris mechanizmusok vizsgálata során kiemelt figyelmet fordítottunk a PKG–STAT3–Opa1 jelátviteli útvonal elemzésére, melyet Chang és munkatársai a mitokondriális fúzió induktoraként írtak le diabeteses cardiomyopathia egér modelljében [72]. Tekintettel arra, hogy a mitokondriális fúzió és hasadás egyensúlyának felborulása a szívizom öregedési folyamatának egyik meghatározó tényezője, Western blot analízist végeztünk a szóban forgó útvonal fehérjéinek bal kamrai expressziójának vizsgálatára. Az idős, fizikailag inaktív állatok myocardiumában csökkent PKG expressziót detektáltunk, amely tovább erősíti a diastoles dysfunctio fennállásának diagnózisát, összhangban korábbi, eltérő modellrendszerekben végzett vizsgálatok eredményeivel [53, 135, 158]. A PKG szint csökkenése rontja a szívizom relaxációját a titin óriásmolekula merevségének fokozásán és a Ca<sup>2+</sup>-háztartás zavarán keresztül, valamint elősegíti a fibrosis és a cardiomyocyta hypertrophia kialakulását. Ezen hatások együttesen hozzájárulnak a bal kamrai diastoles dysfunctiohoz és strukturális

remodellinghez, különösen metabolikus és életkorral összefüggő kórállapotok esetén. A STAT3 transzkripciós faktor mérsékelt kifejeződése az öregedési folyamat következtében fellépő cardioprotektív mechanizmusok hanyatlását jelzi a fizikailag inaktív csoportban [159]. Ezen eredményünket alátámasztja az megállapítás, miszerint a STAT3 expressziójának és aktivációjának csökkenése jelentős mértékben hozzájárul a szívelégtelenség progressziójához, mivel kulcsszerepet játszik a myocardium stresszadaptációjában és a szív működés homeostasisának fenntartásában [160]. Az Opa1 expresszió csökkenése az idős, ülő életmódot reprezentáló csoport esetében a mitokondriális fúzió zavarának fennállására utal, amely károsodott mitokondriális dinamikát eredményezhet, ezáltal közvetlenül hozzájárulva a szívelégtelenség pathomechanizmusához [71, 161]. Ezen eredmény összhangban van korábbi vizsgálatokkal, ahol heterozigóta Opa1<sup>+/-</sup> egerekben a mitokondriumok dysfuncióját, ATP-depléciót és fokozott ROS termelést detektáltak [162]. Második kísérletünk molekuláris vizsgálata egyértelműen igazolta a PKG-STAT3-Opa1 jelátviteli útvonal életkorral összefüggő downregulációját.

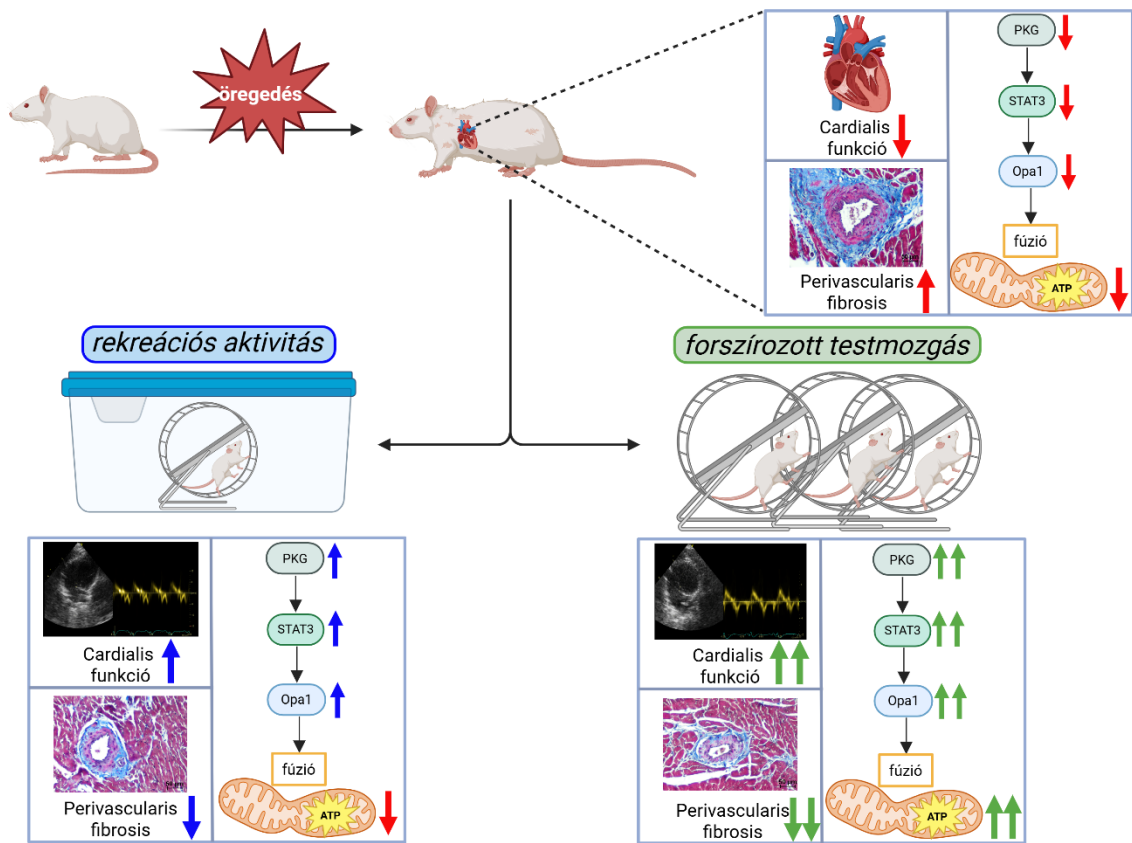
A Western blot eredményeinket tovább analizálva megállapítottuk – tudomásunk szerint elsőként –, hogy a testmozgás a cardioprotektív PKG-STAT3-Opa1 tengelyt is aktiválja. Korábbi kutatások már kimutatták, hogy a PKG különböző pathológiás állapotok során protektív jelátvitelt indukál a szívben. Jelen vizsgálatban a fizikai aktivitás hatására tapasztalt PKG expresszió-növekedés és annak feltételezett kedvező hatása összhangban áll Heerebeek és munkatársai eredményeivel, akik szerint a diastoles szívelégtelenség kezelése során a myocardialis PKG szint helyreállítása kulcsfontosságú [163]. A fizikailag aktív állatokban kimutatott STAT3 szint emelkedést szintén alátámasztják a legújabb tanulmányok, melyek értelmében – az onkogenezissel ellentétben – a STAT3 aktivációja szükséges a cardioprotektív folyamatok közvetítéséhez [74]. Emellett egyre több bizonyíték szól amellett, hogy az Opa1-mediálta mitokondriális fúzió helyreállítása a zavart mitokondriális dinamika esetén az egyik legígéretesebb stratégia a szöveti funkciók javítására. Diabeteses cardiomyopathia modellben például kimutatták, hogy a punicalagin és a paeonol fokozzák a mitokondriális fúziót a STAT3 és Opa1 molekulák szabályozása révén [76, 164]. Ezenfelül, a  $\kappa$ -opioid receptor aktivációja is elősegíti a mitokondriális fúziót, mely a STAT3-Opa1 útvonalon keresztül fokozza a myocardium ellenálló képességét az ischaemia/reperfúziós károsodással szemben [165].

Az „aging” patkány modellen végzett kísérletünkben a molekuláris mechanizmusok részletesebb feltérképezése érdekében az ATP-synthase (ATPS) expresszióját és aktivitását is vizsgáltuk. Eredményeink alapján az ATPS aktivitása jelentősen csökkent az idős, inaktív életmódot modellező állatokban. Ez az ATP-termelés zavarára, valamint fokozott ROS

termelődésre utal, amelyek oxidatív stresszt generálnak, s ez közvetve hozzájárulhat az öregedéssel összefüggő cardialis dysfunctiohoz [166]. Ezt a hipotézist megerősítik azok az irodalmi adatok, amelyek szerint a mitokondriális dysfunctio energiaszegény állapotot eredményez a szívben és súlyosbítja a szívelégtelenség kialakulását [167]. Az aktivitásmérés további eredményei alapján valószínűsíthető, hogy a kizárólag a forszírozott testmozgás hatására detektálható ATPS aktivitás fokozódása az Opa1-függő mitokondriális fúziót követi. Ezt alátámasztják azok a vizsgálatok is, melyek szerint az Opa1-mediálta fúziós mechanizmus fokozza az oxidatív foszforilációt, növeli az ATP-termelést és csökkenti a ROS felhalmozódását [161, 168]. Végző soron eredményeink arra utalnak, hogy a forszírozott testmozgás a PKG–STAT3–Opa1 tengely aktiválása révén, feltételezhetően a mitokondriális fúzió elősegítése során fokozza az energiatermelést idős patkányok myocardiumában.

Ezen kísérlet esetében is fontosnak tartom megemlíteni a kutatás néhány limitációját. Bár a patkányok széles körben alkalmazott állatmodellként szolgálnak a humán öregedési és edzés-adaptációs folyamatok tanulmányozására, nem képesek teljes mértékben reprezentálni az emberi szervezetben lejátszódó komplex változásokat. Másodsorban, a vizsgálat kizárólag hímnemű állatokkal történt, azonban mindkét nem kísérletbe való bevonása transzlációs szempontból általánosíthatóbb eredményekkel szolgált volna.

Második kísérletünk összegzésképpen megállapítható, hogy ez a tanulmány az első olyan kísérletes megközelítés, amely a myocardialis PKG–STAT3–Opa1 jelátviteli útvonal és az ATPS aktivitásán keresztül vizsgálja a rekreációs és a forszírozott fizikai aktivitás diastoles funkcióra gyakorolt hatását az öregedés kontextusában. Eredményeink alapján a forszírozott testmozgás szignifikánsan hatékonyabbnak bizonyult, továbbá elősegítette a mitokondriális működés javulását is. Bár a pontos molekuláris mechanizmusok tisztázásához további kutatások szükségesek, ez a kísérlet új perspektívát nyújt az edzés hatásmechanizmusainak megértéséhez az öregedő szív vonatkozásában és potenciálisan új terápiás célpontokat azonosít a cardialis dysfunctio kezelésében.



20. ábra. Az „aging” kísérlet eredményeinek összefoglalása.

## 7. Összegzés – Summary

Kutatócsoportunk célja az volt, hogy a hypercholesterinaemia, illetve az időskor talaján kialakuló cardialis dysfunctio terápiás vonatkozásában rávilágítson a természetes intervenciók lehetséges pozitív hatásaira. Kiemelendő, hogy mindkét kísérletsorozat esetében a vizsgálatok a már kialakult patológiás állapotokra irányultak, így az alkalmazott beavatkozásokat terápiás céllal, és nem prevenciók kontextusban értékeltük. Első kísérletünkben atherogen étrend segítségével létrehoztuk az atherosclerosis és a cardialis dysfunctiot reprezentáló nyúl modellt, majd a 12 hetes anthocyaninokban gazdag meggyhús-kivonattal végzett kezelést követően a diastoles paraméterek jelentős javulását tapasztaltuk, amit a myocardialis eNOS, PKG és SERCA2a expresszió fokozódása kísért. Megfigyeléseink arra is rávilágítanak, hogy a HO-1 potenciálisan „kétélű kard”, így a mindenkori protektív szerepét újraértékelni szükséges. Második kísérletünkben Wistar patkányok segítségével összehasonlítottuk a rekreációs és a forszírozott fizikai aktivitás hatásait az időskor talaján kialakuló diastoles dysfunctio esetében. Eredményeink alapján a forszírozott testmozgás hatékonyabban javította a bal kamrai relaxációt, mely kedvező hatás feltehetően a PKG–STAT3–Opa1 jelátviteli útvonal aktivációjának, valamint az ennek nyomán fokozódó ATPS aktivitásnak volt tulajdonítható.

The aim of our research group was to highlight the potential positive effects of the natural interventions in the therapeutic context of cardiac dysfunction related to hypercholesterolaemia and aging. It is important to emphasize that in both experimental series, the investigations focused on already established pathological conditions; therefore, the applied interventions were evaluated in a therapeutic rather than a preventive context. In our first experiment, we created a rabbit model of atherosclerosis and cardiac dysfunction using atherogenic diet and after 12 weeks of the treatment with anthocyanin-rich sour cherry extract we observed a significant improvement in the diastolic parameters, accompanied by an increase in the myocardial eNOS, PKG and SERCA2a expressions. Our findings also highlight that HO-1 may act as a potential “double-edged sword”, indicating the need to re-evaluate its universally protective role. In the second examination, we compared the effects of the voluntary and the forced physical activity on age-associated diastolic dysfunction in Wistar rats. Based on our results, forced physical exercise improved left ventricular relaxation more effectively, a beneficial effect presumably attributable to the activation of the PKG–STAT3–Opa1 signaling pathway and the consequent increase in ATPS activity.

## 8. Az értekezés új megállapításai

- Atherosclerotikus nyúl modellben a hypercholesterinaemia és a következményes érrelmeszesedés talaján kialakuló cardialis dysfunctiot a per os, anthocyaninokban gazdag meggyhús-extraktum javítja, melynek háttérében feltételezhetően a myocardialis eNOS, a PKG és a SERCA2a fehérjék expressziójának fokozódása áll; miközben a kivonat a vascularis statusra nincs hatással.
- A PCE-kezelés paradox módon a HO-1 myocardialis expressziójának csökkenéséhez vezet hypercholesterinaemiás nyulakban, ami arra utal, hogy a HO-1 protektív szerepe nem univerzális, hanem a metabolikus környezettől és oxidatív státusztól függően módosulhat.
- „Aging” patkány modellben az időskor következményeként megjelenő diastoles dysfunctiot a forszírozott testmozgás hatékonyabban mérsékli, mint a rekreációs sporttevékenység.
- Idős patkányok myocardiumában mind a rekreációs, mind a forszírozott fizikai aktivitás csökkenti a perivascularis fibrosis mértékét és upregulálja a PKG-STAT3-Opal jelátviteli útvonalat, de csak a forszírozott tevékenység növeli az ATP-synthase aktivitását.

## 9. Irodalomjegyzék

1. Disease, G.B.D., I. Injury, and C. Prevalence, *Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017*. Lancet, 2018. **392**(10159): p. 1789-1858.
2. Khan, M.S., et al., *Global epidemiology of heart failure*. Nat Rev Cardiol, 2024. **21**(10): p. 717-734.
3. Virani, S.S., et al., *Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association*. Circulation, 2021. **143**(8): p. e254-e743.
4. Authors/Task Force, M., et al., *2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC*. Eur J Heart Fail, 2022. **24**(1): p. 4-131.
5. Ziaieian, B. and G.C. Fonarow, *Epidemiology and aetiology of heart failure*. Nat Rev Cardiol, 2016. **13**(6): p. 368-78.
6. Bozkurt, B., et al., *HF STATS 2024: Heart Failure Epidemiology and Outcomes Statistics An Updated 2024 Report from the Heart Failure Society of America*. J Card Fail, 2025. **31**(1): p. 66-116.
7. Yoon, S. and G.H. Eom, *Heart failure with preserved ejection fraction: present status and future directions*. Exp Mol Med, 2019. **51**(12): p. 1-9.
8. Kenchaiah, S., et al., *Obesity and the risk of heart failure*. N Engl J Med, 2002. **347**(5): p. 305-13.
9. Maisel, W.H. and L.W. Stevenson, *Atrial fibrillation in heart failure: epidemiology, pathophysiology, and rationale for therapy*. Am J Cardiol, 2003. **91**(6A): p. 2D-8D.
10. Heidenreich, P.A., et al., *2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines*. Circulation, 2022. **145**(18): p. e895-e1032.
11. Dunlay, S.M., V.L. Roger, and M.M. Redfield, *Epidemiology of heart failure with preserved ejection fraction*. Nat Rev Cardiol, 2017. **14**(10): p. 591-602.

12. Ndiaye, J.F., F. Nekka, and M. Craig, *Understanding the Mechanisms and Treatment of Heart Failure: Quantitative Systems Pharmacology Models with a Focus on SGLT2 Inhibitors and Sex-Specific Differences*. Pharmaceutics, 2023. **15**(3).
13. Hartupee, J. and D.L. Mann, *Neurohormonal activation in heart failure with reduced ejection fraction*. Nat Rev Cardiol, 2017. **14**(1): p. 30-38.
14. Anand, I.S., et al., *Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT)*. Circulation, 2003. **107**(9): p. 1278-83.
15. Bristow, M.R., et al., *Decreased catecholamine sensitivity and beta-adrenergic-receptor density in failing human hearts*. N Engl J Med, 1982. **307**(4): p. 205-11.
16. Pinilla-Vera, M., V.S. Hahn, and D.A. Kass, *Leveraging Signaling Pathways to Treat Heart Failure With Reduced Ejection Fraction*. Circ Res, 2019. **124**(11): p. 1618-1632.
17. Lang, C.C. and A.D. Struthers, *Targeting the renin-angiotensin-aldosterone system in heart failure*. Nat Rev Cardiol, 2013. **10**(3): p. 125-34.
18. Sweeney, M., B. Corden, and S.A. Cook, *Targeting cardiac fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction: mirage or miracle?* EMBO Mol Med, 2020. **12**(10): p. e10865.
19. Cannone, V., et al., *Atrial Natriuretic Peptide: A Molecular Target of Novel Therapeutic Approaches to Cardio-Metabolic Disease*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(13).
20. Braunwald, E., *The path to an angiotensin receptor antagonist-neprilysin inhibitor in the treatment of heart failure*. J Am Coll Cardiol, 2015. **65**(10): p. 1029-41.
21. Cohn, J.N., R. Ferrari, and N. Sharpe, *Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling*. J Am Coll Cardiol, 2000. **35**(3): p. 569-82.
22. Shiojima, I., et al., *Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure*. J Clin Invest, 2005. **115**(8): p. 2108-18.
23. Duangrat, R., W. Parichatikanond, and S. Mangmool, *Dual Blockade of TGF-beta Receptor and Endothelin Receptor Synergistically Inhibits Angiotensin II-Induced Myofibroblast Differentiation: Role of AT(1)R/G(alphaq)-Mediated TGF-beta1 and ET-1 Signaling*. Int J Mol Sci, 2023. **24**(8).
24. Ravassa, S., et al., *Cardiac Fibrosis in heart failure: Focus on non-invasive diagnosis and emerging therapeutic strategies*. Mol Aspects Med, 2023. **93**: p. 101194.

25. Wang, X., R. Liu, and D. Liu, *The Role of the MAPK Signaling Pathway in Cardiovascular Disease: Pathophysiological Mechanisms and Clinical Therapy*. Int J Mol Sci, 2025. **26**(6).
26. Nakamura, M. and J. Sadoshima, *Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy*. Nat Rev Cardiol, 2018. **15**(7): p. 387-407.
27. Frangogiannis, N.G., *Cardiac fibrosis*. Cardiovasc Res, 2021. **117**(6): p. 1450-1488.
28. Moretti, A., et al., *Essential myosin light chain as a target for caspase-3 in failing myocardium*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(18): p. 11860-5.
29. Fayyaz, A.U., et al., *Pathophysiological insights into HFpEF from studies of human cardiac tissue*. Nat Rev Cardiol, 2025. **22**(2): p. 90-104.
30. Ajoolahady, A., et al., *Inflammation in atherosclerosis: pathophysiology and mechanisms*. Cell Death Dis, 2024. **15**(11): p. 817.
31. Benjamin, E.J., et al., *Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association*. Circulation, 2018. **137**(12): p. e67-e492.
32. Jebari-Benslaiman, S., et al., *Pathophysiology of Atherosclerosis*. Int J Mol Sci, 2022. **23**(6).
33. Ference, B.A., et al., *Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel*. Eur Heart J, 2017. **38**(32): p. 2459-2472.
34. Nordestgaard, B.G., et al., *Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society*. Eur Heart J, 2013. **34**(45): p. 3478-90a.
35. Cuchel, M., et al., *Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society*. Eur Heart J, 2014. **35**(32): p. 2146-57.
36. Blann, A.D., S.K. Nadar, and G.Y. Lip, *The adhesion molecule P-selectin and cardiovascular disease*. Eur Heart J, 2003. **24**(24): p. 2166-79.
37. Hubbard, A.K. and R. Rothlein, *Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and cell signaling cascades*. Free Radic Biol Med, 2000. **28**(9): p. 1379-86.

38. Iiyama, K., et al., *Patterns of vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 expression in rabbit and mouse atherosclerotic lesions and at sites predisposed to lesion formation*. *Circ Res*, 1999. **85**(2): p. 199-207.
39. Raines, E.W., S.K. Dower, and R. Ross, *Interleukin-1 mitogenic activity for fibroblasts and smooth muscle cells is due to PDGF-AA*. *Science*, 1989. **243**(4889): p. 393-6.
40. Bentzon, J.F., et al., *Mechanisms of plaque formation and rupture*. *Circ Res*, 2014. **114**(12): p. 1852-66.
41. Otterbein, L.E., R. Foresti, and R. Motterlini, *Heme Oxygenase-1 and Carbon Monoxide in the Heart: The Balancing Act Between Danger Signaling and Pro-Survival*. *Circ Res*, 2016. **118**(12): p. 1940-1959.
42. Chiang, S.K., S.E. Chen, and L.C. Chang, *The Role of HO-1 and Its Crosstalk with Oxidative Stress in Cancer Cell Survival*. *Cells*, 2021. **10**(9).
43. Ishikawa, K., et al., *Heme oxygenase-1 inhibits atherosclerotic lesion formation in ldl-receptor knockout mice*. *Circ Res*, 2001. **88**(5): p. 506-12.
44. Funes, S.C., et al., *Naturally Derived Heme-Oxygenase 1 Inducers and Their Therapeutic Application to Immune-Mediated Diseases*. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 1467.
45. Furchgott, R.F. and J.V. Zawadzki, *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine*. *Nature*, 1980. **288**(5789): p. 373-6.
46. Furchgott, R.F., *Endothelium-Derived Relaxing Factor: Discovery, Early Studies, and Identification as Nitric Oxide (Nobel Lecture)*. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1999. **38**(13-14): p. 1870-1880.
47. Forstermann, U. and W.C. Sessa, *Nitric oxide synthases: regulation and function*. *Eur Heart J*, 2012. **33**(7): p. 829-37, 837a-837d.
48. Wollert, K.C., et al., *Gene transfer of cGMP-dependent protein kinase I enhances the antihypertrophic effects of nitric oxide in cardiomyocytes*. *Hypertension*, 2002. **39**(1): p. 87-92.
49. Kong, Q. and R.M. Blanton, *Protein kinase G I and heart failure: Shifting focus from vascular unloading to direct myocardial antiremodeling effects*. *Circ Heart Fail*, 2013. **6**(6): p. 1268-83.
50. Kranias, E.G. and R.J. Hajjar, *Modulation of cardiac contractility by the phospholamban/SERCA2a regulatome*. *Circ Res*, 2012. **110**(12): p. 1646-60.

51. Frantz, S., et al., *Stress-dependent dilated cardiomyopathy in mice with cardiomyocyte-restricted inactivation of cyclic GMP-dependent protein kinase I*. Eur Heart J, 2013. **34**(16): p. 1233-44.
52. Kruger, M., et al., *Protein kinase G modulates human myocardial passive stiffness by phosphorylation of the titin springs*. Circ Res, 2009. **104**(1): p. 87-94.
53. Cai, Z., et al., *The NO-cGMP-PKG Axis in HFpEF: From Pathological Mechanisms to Potential Therapies*. Aging Dis, 2023. **14**(1): p. 46-62.
54. Ajuolabady, A., D. Pratico, and J. Ren, *Endothelial dysfunction: mechanisms and contribution to diseases*. Acta Pharmacol Sin, 2024. **45**(10): p. 2023-2031.
55. Ludmer, P.L., et al., *Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries*. N Engl J Med, 1986. **315**(17): p. 1046-51.
56. Zile, M.R., C.F. Baicu, and W.H. Gaasch, *Diastolic heart failure--abnormalities in active relaxation and passive stiffness of the left ventricle*. N Engl J Med, 2004. **350**(19): p. 1953-9.
57. Lopez-Otin, C., et al., *Hallmarks of aging: An expanding universe*. Cell, 2023. **186**(2): p. 243-278.
58. Lopez-Otin, C., et al., *The hallmarks of aging*. Cell, 2013. **153**(6): p. 1194-217.
59. Biernacka, A. and N.G. Frangogiannis, *Aging and Cardiac Fibrosis*. Aging Dis, 2011. **2**(2): p. 158-173.
60. Dai, D.F., et al., *Cardiac aging: from molecular mechanisms to significance in human health and disease*. Antioxid Redox Signal, 2012. **16**(12): p. 1492-526.
61. Xie, S., et al., *Metabolic landscape in cardiac aging: insights into molecular biology and therapeutic implications*. Signal Transduct Target Ther, 2023. **8**(1): p. 114.
62. Pes, G.M., et al., *Diet and longevity in the Blue Zones: A set-and-forget issue?* Maturitas, 2022. **164**: p. 31-37.
63. Lakatta, E.G. and D. Levy, *Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease*. Circulation, 2003. **107**(2): p. 346-54.
64. Moslehi, J., R.A. DePinho, and E. Sahin, *Telomeres and mitochondria in the aging heart*. Circ Res, 2012. **110**(9): p. 1226-37.
65. Li, Y., et al., *New Insights into Mitochondria in Health and Diseases*. Int J Mol Sci, 2024. **25**(18).
66. Picca, A., et al., *Mitochondrial quality control mechanisms as molecular targets in cardiac ageing*. Nat Rev Cardiol, 2018. **15**(9): p. 543-554.

67. Westermann, B., *Mitochondrial fusion and fission in cell life and death*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2010. **11**(12): p. 872-84.
68. Chan, D.C., *Fusion and fission: interlinked processes critical for mitochondrial health*. Annu Rev Genet, 2012. **46**: p. 265-87.
69. Sanchis-Gomar, F., G. Lippi, and A. Lucia, '*Mitotherapy*' for Heart Failure. Trends Mol Med, 2016. **22**(4): p. 267-269.
70. Hinton, A., Jr., et al., *Mitochondrial Structure and Function in Human Heart Failure*. Circ Res, 2024. **135**(2): p. 372-396.
71. Chen, L., et al., *Mitochondrial OPA1, apoptosis, and heart failure*. Cardiovasc Res, 2009. **84**(1): p. 91-9.
72. Chang, P., et al., *BNP protects against diabetic cardiomyopathy by promoting Opa1-mediated mitochondrial fusion via activating the PKG-STAT3 pathway*. Redox Biol, 2023. **62**: p. 102702.
73. Insete, J. and D. Garcia-Dorado, *The cGMP/PKG pathway as a common mediator of cardioprotection: translatability and mechanism*. Br J Pharmacol, 2015. **172**(8): p. 1996-2009.
74. Zhang, Q., et al., *Signaling pathways and targeted therapy for myocardial infarction*. Signal Transduct Target Ther, 2022. **7**(1): p. 78.
75. Jacoby, J.J., et al., *Cardiomyocyte-restricted knockout of STAT3 results in higher sensitivity to inflammation, cardiac fibrosis, and heart failure with advanced age*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(22): p. 12929-34.
76. Liu, C., et al., *Paeonol promotes Opa1-mediated mitochondrial fusion via activating the CK2alpha-Stat3 pathway in diabetic cardiomyopathy*. Redox Biol, 2021. **46**: p. 102098.
77. Frezza, C., et al., *OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion*. Cell, 2006. **126**(1): p. 177-89.
78. Aldrich, J.E., *Basic physics of ultrasound imaging*. Crit Care Med, 2007. **35**(5 Suppl): p. S131-7.
79. Galderisi, M., et al., *Standardization of adult transthoracic echocardiography reporting in agreement with recent chamber quantification, diastolic function, and heart valve disease recommendations: an expert consensus document of the European Association of Cardiovascular Imaging*. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2017. **18**(12): p. 1301-1310.

80. Reeder, G.S., et al., *Use of Doppler techniques (continuous-wave, pulsed-wave, and color flow imaging) in the noninvasive hemodynamic assessment of congenital heart disease*. Mayo Clin Proc, 1986. **61**(9): p. 725-44.
81. Ho, C.Y. and S.D. Solomon, *A clinician's guide to tissue Doppler imaging*. Circulation, 2006. **113**(10): p. e396-8.
82. Nagueh, S.F., et al., *Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging*. J Am Soc Echocardiogr, 2016. **29**(4): p. 277-314.
83. Mitter, S.S., S.J. Shah, and J.D. Thomas, *A Test in Context: E/A and E/e' to Assess Diastolic Dysfunction and LV Filling Pressure*. J Am Coll Cardiol, 2017. **69**(11): p. 1451-1464.
84. Dons, M., et al., *Myocardial performance index by tissue Doppler echocardiography predicts adverse events in patients with atrial fibrillation*. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2020. **21**(5): p. 560-566.
85. Little, W.C. and J.K. Oh, *Echocardiographic evaluation of diastolic function can be used to guide clinical care*. Circulation, 2009. **120**(9): p. 802-9.
86. Russo, C., et al., *Prevalence and prognostic value of subclinical left ventricular systolic dysfunction by global longitudinal strain in a community-based cohort*. Eur J Heart Fail, 2014. **16**(12): p. 1301-9.
87. Potter, E. and T.H. Marwick, *Assessment of Left Ventricular Function by Echocardiography: The Case for Routinely Adding Global Longitudinal Strain to Ejection Fraction*. JACC Cardiovasc Imaging, 2018. **11**(2 Pt 1): p. 260-274.
88. Blessberger, H. and T. Binder, *NON-invasive imaging: Two dimensional speckle tracking echocardiography: basic principles*. Heart, 2010. **96**(9): p. 716-22.
89. Durazzo, A., et al., *Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health*. Phytother Res, 2019. **33**(9): p. 2221-2243.
90. Mansoori, S., A. Dini, and S.C. Chai, *Effects of tart cherry and its metabolites on aging and inflammatory conditions: Efficacy and possible mechanisms*. Ageing Res Rev, 2021. **66**: p. 101254.
91. Yilmaz, F.M., et al., *Sour Cherry By-products: Compositions, Functional Properties and Recovery Potentials - A Review*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2019. **59**(22): p. 3549-3563.

92. McCune, L.M., et al., *Cherries and health: a review*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2011. **51**(1): p. 1-12.
93. Wallace, T.C. and M.M. Giusti, *Anthocyanins*. Adv Nutr, 2015. **6**(5): p. 620-2.
94. Sadowska-Bartosz, I. and G. Bartosz, *Antioxidant Activity of Anthocyanins and Anthocyanidins: A Critical Review*. Int J Mol Sci, 2024. **25**(22).
95. Aboonabi, A., I. Singh, and R. Rose' Meyer, *Cytoprotective effects of berry anthocyanins against induced oxidative stress and inflammation in primary human diabetic aortic endothelial cells*. Chem Biol Interact, 2020. **317**: p. 108940.
96. Wang, L.S. and G.D. Stoner, *Anthocyanins and their role in cancer prevention*. Cancer Lett, 2008. **269**(2): p. 281-90.
97. Li, D., et al., *Purified anthocyanin supplementation reduces dyslipidemia, enhances antioxidant capacity, and prevents insulin resistance in diabetic patients*. J Nutr, 2015. **145**(4): p. 742-8.
98. Pojer, E., et al., *The Case for Anthocyanin Consumption to Promote Human Health: A Review*. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2013. **12**(5): p. 483-508.
99. Wu, T., et al., *Honeysuckle anthocyanin supplementation prevents diet-induced obesity in C57BL/6 mice*. Food Funct, 2013. **4**(11): p. 1654-61.
100. Huang, W., et al., *Effect of Blueberry Anthocyanins Malvidin and Glycosides on the Antioxidant Properties in Endothelial Cells*. Oxid Med Cell Longev, 2016. **2016**: p. 1591803.
101. Hariri, M., B. Amirkalali, and A. Gholami, *Effects of purified anthocyanins supplementation on serum concentration of inflammatory mediators: A systematic review and dose-response meta-analysis on randomized clinical trials*. Phytother Res, 2024. **38**(3): p. 1494-1508.
102. Kozłowska, A. and T. Dzierzanowski, *Targeting Inflammation by Anthocyanins as the Novel Therapeutic Potential for Chronic Diseases: An Update*. Molecules, 2021. **26**(14).
103. Qin, Y., et al., *Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects*. Am J Clin Nutr, 2009. **90**(3): p. 485-92.
104. Xu, L., et al., *Anthocyanins, Anthocyanin-Rich Berries, and Cardiovascular Risks: Systematic Review and Meta-Analysis of 44 Randomized Controlled Trials and 15 Prospective Cohort Studies*. Front Nutr, 2021. **8**: p. 747884.

105. Zhu, Y., et al., *Purified anthocyanin supplementation improves endothelial function via NO-cGMP activation in hypercholesterolemic individuals*. Clin Chem, 2011. **57**(11): p. 1524-33.
106. Toufektsian, M.C., et al., *Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury*. J Nutr, 2008. **138**(4): p. 747-52.
107. Cassidy, A., et al., *High anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women*. Circulation, 2013. **127**(2): p. 188-96.
108. Bull, F.C., et al., *World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour*. Br J Sports Med, 2020. **54**(24): p. 1451-1462.
109. Saltin, B., et al., *Response to exercise after bed rest and after training*. Circulation, 1968. **38**(5 Suppl): p. VIII1-78.
110. Huang, G., et al., *Resting heart rate changes after endurance training in older adults: a meta-analysis*. Med Sci Sports Exerc, 2005. **37**(8): p. 1381-6.
111. Carter, J.B., E.W. Banister, and A.P. Blaber, *Effect of endurance exercise on autonomic control of heart rate*. Sports Med, 2003. **33**(1): p. 33-46.
112. Moreira, J.B.N., M. Wohlwend, and U. Wisloff, *Exercise and cardiac health: physiological and molecular insights*. Nat Metab, 2020. **2**(9): p. 829-839.
113. Artinian, N.T., et al., *Interventions to promote physical activity and dietary lifestyle changes for cardiovascular risk factor reduction in adults: a scientific statement from the American Heart Association*. Circulation, 2010. **122**(4): p. 406-41.
114. Powers, S.K., et al., *Exercise-induced improvements in myocardial antioxidant capacity: the antioxidant players and cardioprotection*. Free Radic Res, 2014. **48**(1): p. 43-51.
115. Bernardo, B.C., et al., *Understanding Key Mechanisms of Exercise-Induced Cardiac Protection to Mitigate Disease: Current Knowledge and Emerging Concepts*. Physiol Rev, 2018. **98**(1): p. 419-475.
116. Zhao, H., et al., *Small Extracellular Vesicles From Brown Adipose Tissue Mediate Exercise Cardioprotection*. Circ Res, 2022. **130**(10): p. 1490-1506.
117. Hou, Z., et al., *Longterm Exercise-Derived Exosomal miR-342-5p: A Novel Exerkine for Cardioprotection*. Circ Res, 2019. **124**(9): p. 1386-1400.
118. Wegierska, A.E., et al., *The Connection Between Physical Exercise and Gut Microbiota: Implications for Competitive Sports Athletes*. Sports Med, 2022. **52**(10): p. 2355-2369.

119. Chen, H., et al., *Exercise training maintains cardiovascular health: signaling pathways involved and potential therapeutics*. *Signal Transduct Target Ther*, 2022. **7**(1): p. 306.
120. Weeks, K.L., et al., *The IGF1-PI3K-Akt Signaling Pathway in Mediating Exercise-Induced Cardiac Hypertrophy and Protection*. *Adv Exp Med Biol*, 2017. **1000**: p. 187-210.
121. Bostrom, P., et al., *C/EBPbeta controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling*. *Cell*, 2010. **143**(7): p. 1072-83.
122. Fajardo, G., et al., *Mitochondrial Quality Control in the Heart: The Balance between Physiological and Pathological Stress*. *Biomedicines*, 2022. **10**(6).
123. Yan, Z., V.A. Lira, and N.P. Greene, *Exercise training-induced regulation of mitochondrial quality*. *Exerc Sport Sci Rev*, 2012. **40**(3): p. 159-64.
124. Jiang, H.K., et al., *Aerobic interval training attenuates mitochondrial dysfunction in rats post-myocardial infarction: roles of mitochondrial network dynamics*. *Int J Mol Sci*, 2014. **15**(4): p. 5304-22.
125. Ghahremani, R., et al., *Mitochondrial dynamics as an underlying mechanism involved in aerobic exercise training-induced cardioprotection against ischemia-reperfusion injury*. *Life Sci*, 2018. **213**: p. 102-108.
126. Lang, R.M., et al., *Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging*. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2015. **16**(3): p. 233-70.
127. Getz, G.S. and C.A. Reardon, *Animal models of atherosclerosis*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012. **32**(5): p. 1104-15.
128. Yin, W., et al., *Plasma lipid profiling across species for the identification of optimal animal models of human dyslipidemia*. *J Lipid Res*, 2012. **53**(1): p. 51-65.
129. Hornyik, T., et al., *Transgenic rabbit models for cardiac disease research*. *Br J Pharmacol*, 2022. **179**(5): p. 938-957.
130. Sharifov, O.F., et al., *Diagnostic Accuracy of Tissue Doppler Index E/e' for Evaluating Left Ventricular Filling Pressure and Diastolic Dysfunction/Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Systematic Review and Meta-Analysis*. *J Am Heart Assoc*, 2016. **5**(1).
131. Douglas, P.S., *The left atrium: a biomarker of chronic diastolic dysfunction and cardiovascular disease risk*. *J Am Coll Cardiol*, 2003. **42**(7): p. 1206-7.

132. Bruch, C., et al., *Tei-Index in coronary artery disease--validation in patients with overall cardiac and isolated diastolic dysfunction*. *Z Kardiol*, 2002. **91**(6): p. 472-80.
133. Stange, E., B. Agostini, and J. Paenberg, *Changes in rabbit lipoprotein properties by dietary cholesterol, and saturated and polyunsaturated fats*. *Atherosclerosis*, 1975. **22**(1): p. 125-48.
134. Fazio, G.P., et al., *Transesophageal echocardiographically detected atherosclerotic aortic plaque is a marker for coronary artery disease*. *J Am Coll Cardiol*, 1993. **21**(1): p. 144-50.
135. Paulus, W.J. and C. Tschope, *A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation*. *J Am Coll Cardiol*, 2013. **62**(4): p. 263-71.
136. Huang, Y., et al., *Cardiac systolic and diastolic dysfunction after a cholesterol-rich diet*. *Circulation*, 2004. **109**(1): p. 97-102.
137. Xu, J.W., K. Ikeda, and Y. Yamori, *Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by cyanidin-3-glucoside, a typical anthocyanin pigment*. *Hypertension*, 2004. **44**(2): p. 217-22.
138. Sozanski, T., et al., *The iridoid loganic acid and anthocyanins from the cornelian cherry (*Cornus mas L.*) fruit increase the plasma l-arginine/ADMA ratio and decrease levels of ADMA in rabbits fed a high-cholesterol diet*. *Phytomedicine*, 2019. **52**: p. 1-11.
139. Quintieri, A.M., et al., *Malvidin, a red wine polyphenol, modulates mammalian myocardial and coronary performance and protects the heart against ischemia/reperfusion injury*. *J Nutr Biochem*, 2013. **24**(7): p. 1221-31.
140. Csonka, C., et al., *Modulation of Hypercholesterolemia-Induced Oxidative/Nitrative Stress in the Heart*. *Oxid Med Cell Longev*, 2016. **2016**: p. 3863726.
141. Kishimoto, Y., K. Kondo, and Y. Momiyama, *The Protective Role of Heme Oxygenase-1 in Atherosclerotic Diseases*. *Int J Mol Sci*, 2019. **20**(15).
142. Barbagallo, I., et al., *Potential therapeutic effects of natural heme oxygenase-1 inducers in cardiovascular diseases*. *Antioxid Redox Signal*, 2013. **18**(5): p. 507-21.
143. Waza, A.A., et al., *A review on heme oxygenase-1 induction: is it a necessary evil*. *Inflamm Res*, 2018. **67**(7): p. 579-588.
144. Allwood, M.A., et al., *Heme oxygenase-1 overexpression exacerbates heart failure with aging and pressure overload but is protective against isoproterenol-induced cardiomyopathy in mice*. *Cardiovasc Pathol*, 2014. **23**(4): p. 231-7.

145. Liu, H.H. and J.J. Li, *Aging and dyslipidemia: a review of potential mechanisms*. Ageing Res Rev, 2015. **19**: p. 43-52.
146. Watts, G.F., E.M. Ooi, and D.C. Chan, *Demystifying the management of hypertriglyceridaemia*. Nat Rev Cardiol, 2013. **10**(11): p. 648-61.
147. Song, R., et al., *The Roles of Lipid Metabolism in the Pathogenesis of Chronic Diseases in the Elderly*. Nutrients, 2023. **15**(15).
148. Jakicic, J.M., et al., *Physical Activity and the Prevention of Weight Gain in Adults: A Systematic Review*. Med Sci Sports Exerc, 2019. **51**(6): p. 1262-1269.
149. Rowe, G., et al., *Enhanced beta-1 adrenergic receptor responsiveness in coronary arterioles following intravenous stromal vascular fraction therapy in aged rats*. Aging (Albany NY), 2019. **11**(13): p. 4561-4578.
150. Mandinov, L., et al., *Diastolic heart failure*. Cardiovasc Res, 2000. **45**(4): p. 813-25.
151. Brenner, D.A., C.S. Apstein, and K.W. Saupe, *Exercise training attenuates age-associated diastolic dysfunction in rats*. Circulation, 2001. **104**(2): p. 221-6.
152. Cho, J.M., et al., *Late-in-life treadmill training rejuvenates autophagy, protein aggregate clearance, and function in mouse hearts*. Aging Cell, 2021. **20**(10): p. e13467.
153. de Boer, R.A., et al., *Towards better definition, quantification and treatment of fibrosis in heart failure. A scientific roadmap by the Committee of Translational Research of the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology*. Eur J Heart Fail, 2019. **21**(3): p. 272-285.
154. Reed, A.L., et al., *Diastolic dysfunction is associated with cardiac fibrosis in the senescence-accelerated mouse*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011. **301**(3): p. H824-31.
155. Horn, M.A. and A.W. Trafford, *Aging and the cardiac collagen matrix: Novel mediators of fibrotic remodelling*. J Mol Cell Cardiol, 2016. **93**: p. 175-85.
156. Scioli, M.G., et al., *Ageing and microvasculature*. Vasc Cell, 2014. **6**: p. 19.
157. Hotta, K., et al., *Exercise training reverses age-induced diastolic dysfunction and restores coronary microvascular function*. J Physiol, 2017. **595**(12): p. 3703-3719.
158. Matyas, C., et al., *Prevention of the development of heart failure with preserved ejection fraction by the phosphodiesterase-5A inhibitor vardenafil in rats with type 2 diabetes*. Eur J Heart Fail, 2017. **19**(3): p. 326-336.
159. Boengler, K., et al., *The myocardial JAK/STAT pathway: from protection to failure*. Pharmacol Ther, 2008. **120**(2): p. 172-85.

160. Hilfiker-Kleiner, D., et al., *Signal transducer and activator of transcription 3 is required for myocardial capillary growth, control of interstitial matrix deposition, and heart protection from ischemic injury*. *Circ Res*, 2004. **95**(2): p. 187-95.
161. Chen, W., H. Zhao, and Y. Li, *Mitochondrial dynamics in health and disease: mechanisms and potential targets*. *Signal Transduct Target Ther*, 2023. **8**(1): p. 333.
162. Chen, L., et al., *OPAI mutation and late-onset cardiomyopathy: mitochondrial dysfunction and mtDNA instability*. *J Am Heart Assoc*, 2012. **1**(5): p. e003012.
163. van Heerebeek, L., et al., *Low myocardial protein kinase G activity in heart failure with preserved ejection fraction*. *Circulation*, 2012. **126**(7): p. 830-9.
164. Fu, F., et al., *Punicalagin Protects Against Diabetic Cardiomyopathy by Promoting Opa1-Mediated Mitochondrial Fusion via Regulating PTP1B-Stat3 Pathway*. *Antioxid Redox Signal*, 2021. **35**(8): p. 618-641.
165. Wang, K., et al., *kappa-opioid receptor activation promotes mitochondrial fusion and enhances myocardial resistance to ischemia and reperfusion injury via STAT3-OPAI pathway*. *Eur J Pharmacol*, 2020. **874**: p. 172987.
166. Chen, Y.R. and J.L. Zweier, *Cardiac mitochondria and reactive oxygen species generation*. *Circ Res*, 2014. **114**(3): p. 524-37.
167. Sabbah, H.N., *Targeting the Mitochondria in Heart Failure: A Translational Perspective*. *JACC Basic Transl Sci*, 2020. **5**(1): p. 88-106.
168. Ding, M., et al., *Mitochondrial fusion promoter restores mitochondrial dynamics balance and ameliorates diabetic cardiomyopathy in an optic atrophy 1-dependent way*. *Acta Physiol (Oxf)*, 2020. **229**(1): p. e13428.



Nyilvántartási szám: DEENK/448/2025.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Szekeres Réka

Doktori Iskola: Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola. Táplálkozástudományi Doktori Program

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Szekeres, R.**, Priksz, D., Bombicz, M., Pelles-Taskó, B., Szilágyi, A., Bernát, B., Pósa, A., Varga, B., Gesztelyi, R., Somodi, S., Szabó, Z., Szilvássy, Z., Juhász, B.: Exercise Types: Physical Activity Mitigates Cardiac Aging and Enhances Mitochondrial Function via PKG-STAT3-Opa1 Axis.  
*Aging Dis. [Epub ahead of print], 2024.*  
DOI: <http://dx.doi.org/10.14336/AD.2024.0959>  
IF: 6.9
2. **Szekeres, R.**, Priksz, D., Kiss, R., Romanescu, D. D., Bombicz, M., Varga, B., Gesztelyi, R., Szilágyi, A., Takács, B., Tarjányi, V., Pelles-Taskó, B., Forgács, I. N., Gálné Remenyik, J., Szilvássy, Z., Juhász, B.: Therapeutic Aspects of Prunus cerasus Extract in a Rabbit Model of Atherosclerosis-Associated Diastolic Dysfunction.  
*Int. J. Mol. Sci. 24 (17), 1-19, 2023.*  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms241713253>  
IF: 4.9

### További közlemények

3. Piros, Z., Kispál, K., **Szekeres, R.**, Takács, B., Kiss, R., Szabó, A. M., Ujvárosy, D., Szabó, Z., Szilvássy, Z., Gesztelyi, R., Juhász, B.: Alarming Signal from the Ear: Tinnitus, a Possible Epiphenomenon of Silent Hyperlipidaemia.  
*Biomedicines. 12 (12), 1-14, 2024.*  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines12122837>  
IF: 3.9





4. Szilágyi, A., Takács, B., **Szekeres, R.**, Tarjányi, V., Nagy, D., Priksz, D., Bombicz, M., Kiss, R., Szabó, A. M., Lehoczki, A., Gesztelyi, R., Juhász, B., Szilvássy, Z., Varga, B.: Effects of voluntary and forced physical exercise on the retinal health of aging Wistar rats. *GeroScience*. 46 (5), 4707-4728, 2024.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11357-024-01208-x>  
IF: 5.4
5. Pelles-Taskó, B., **Szekeres, R.**, Takács, B., Szilágyi, A., Ujvárosy, D., Bombicz, M., Priksz, D., Varga, B., Gesztelyi, R., Szabó, Z., Szilvássy, Z., Juhász, B.: From Nature to Treatment: The Impact of Pterostilbene on Mitigating Retinal Ischemia-Reperfusion Damage by Reducing Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis. *Life (Basel)*. 14 (9), 1-13, 2024.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/life14091148>  
IF: 3.4
6. Czine, P., Balogh, P., Blága, Z., Szabó, Z., **Szekeres, R.**, Hess, S., Juhász, B.: Is It Sufficient to Select the Optimal Class Number Based Only on Information Criteria in Fixed- and Random-Parameter Latent Class Discrete Choice Modeling Approaches? *Econometrics*. 12 (3), 1-16, 2024.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/econometrics12030022>  
IF: 1.4
7. Bernát, B., Erdélyi, R., Fazekas, L., Garami, G., **Szekeres, R.**, Takács, B., Bombicz, M., Varga, B., Sárkány, F., Ráduly, A. P., Romanescu, D. D., Papp, Z., Tóth, A., Szilvássy, Z., Juhász, B., Priksz, D.: Drug Candidate BGP-15 Prevents Isoproterenol-Induced Arrhythmias and Alters Heart Rate Variability (HRV) in Telemetry-Implanted Rats. *Pharmaceuticals (Basel)*. 16 (3), 1-22, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ph16030359>  
IF: 4.3
8. Blága, Z., Czine, P., Takács, B., Szilágyi, A., **Szekeres, R.**, Wachal, Z., Hegedűs, C., Buchholz, G., Varga, B., Priksz, D., Bombicz, M., Szabó, A. M., Kiss, R., Gesztelyi, R., Romanescu, D. D., Szabó, Z., Szűcs, M., Balogh, P., Szilvássy, Z., Juhász, B.: Examination of Preferences for COVID-19 Vaccines in Hungary Based on Their Properties: Examining the Impact of Pandemic Awareness with a Hybrid Choice Approach. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 20 (2), 1-16, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph20021270>
9. Kozma, M., Bombicz, M., Varga, B., Priksz, D., Gesztelyi, R., Tarjányi, V., Kiss, R., **Szekeres, R.**, Takács, B., Ménes, Á., Balla, J., Balla, G., Szilvássy, J., Szilvássy, Z., Juhász, B.: Cardioprotective Role of BGP-15 in Ageing Zucker Diabetic Fatty Rat (ZDF) Model: extended Mitochondrial Longevity. *Pharmaceutics*. 14 (2), 1-16, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics14020226>  
IF: 5.4





10. Priksz, D., Lampé, N., Kovács, Á., Herwig, M., Bombicz, M., Varga, B., Wilisicz, T., Szilvássy, J., Pósa, A., Kiss, R., Gesztelyi, R., Ráduly, A. P., **Szekeres, R.**, Sieme, M., Papp, Z., Tóth, A., Hamdani, N., Szilvássy, Z., Juhász, B.: Nicotinic-acid derivative BGP-15 improves diastolic function in a rabbit model of atherosclerotic cardiomyopathy.  
*Br. J. Pharmacol.* 179 (10), 2240-2258, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/bph.15749>  
IF: 7.3
11. Viczján, G., Szilágyi, A., Takács, B., Óvári, I., **Szekeres, R.**, Tarjányi, V., Erdei, T. D., Teleki, V., Zsuga, J., Szilvássy, Z., Juhász, B., Varga, B., Gesztelyi, R.: The effect of a long-term treatment with cannabidiol-rich hemp extract oil on the adenosinergic system of the Zucker Diabetic Fatty (ZDF) rat atrium.  
*Front. Pharmacol.* 13, 1-12, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.1043275>  
IF: 5.6
12. Szilágyi, A., Takács, B., **Szekeres, R.**, Tarjányi, V., Bombicz, M., Priksz, D., Kovács, A. I., Juhász, B., Frecska, E., Szilvássy, Z., Varga, B.: Therapeutic Properties of Ayahuasca Components in Ischemia/Reperfusion Injury of the Eye.  
*Biomedicines.* 10 (5), 1-19, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines10050997>  
IF: 4.7
13. Viczján, G., Erdei, T. D., Óvári, I., Lampé, N., **Szekeres, R.**, Bombicz, M., Takács, B., Szilágyi, A., Zsuga, J., Szilvássy, Z., Juhász, B., Gesztelyi, R.: A Body of Circumstantial Evidence for the Irreversible Ectonucleotidase Inhibitory Action of FSCPX, an Agent Known as a Selective Irreversible A1 Adenosine Receptor Antagonist So Far.  
*Int. J. Mol. Sci.* 22 (18), 1-21, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22189831>  
IF: 6.208

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 59,408**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 11,8**

A DEENK a Jelölt által a Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2025.07.15.



## **10. Tárgyszavak**

### **Magyar tárgyszavak:**

diastoles dysfunctio

hypercholesterinaemia

öregedés

echocardiographia

anthocyanin

fizikai aktivitás

mitokondriális fúzió

### **Angol tárgyszavak:**

diastolic dysfunction

hypercholesterolaemia

aging

echocardiography

anthocyanin

physical activity

mitochondrial fusion

## 11. Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt köszönöm Dr. Szilvássy Zoltán Professzor Úrnak, hogy az általa vezetett Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetben végezhettem PhD munkámat.

Hálával és köszönettel tartozom Témavezetőmnek, Prof. Dr. Juhász Bélának, hogy nemcsak szakmai tudásával és instrukcióival kísért végig a tudományos munkában, hanem az élet többi területén is mindig támogat.

Köszönöm Prof. Dr. Gesztelyi Rudolfnak, hogy a statisztikai elemzésekben nyújtott segítsége mellett sokszor felhívta a figyelmem arra, hogy más szemszögből is érdemes vizsgálni az összefüggéseket.

Dr. Priksz Dánielnek és Dr. Bombicz Mariannak köszönöm az echocardiographia és a molekuláris vizsgálatok során nyújtott segítségüket.

Hálás vagyok Pelles-Taskó Beátának és Dr. Szilágyi Annának, hogy bármikor számíthatok rájuk, a barátságukért és őszinte támogatásukért.

Nagyon köszönöm Dr. Kiss Ritának, Dr. Takács Barbarának, Oláh Krisztinának, Szegváriné Erdős Andreának és a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet valamennyi munkatársának, hogy végtelen kreativitásukkal segítettek az állatkísérletek során.

Végül, de nem utolsó sorban, köszönettel tartozom egész Családom és Barátaim szeretetéért és kitartó támogatásukért.

A kutatásokat a következő azonosítószámú projektek támogatták: GINOP-2.3.4-15-2016-00002, GINOP-2.3.4-15-2020-00008, TKP2021-EGA-18, TKP2020-IKA-04, TKP2020-NKA-04.

## 12. Fűggelék