

Nemi különbségek és hasonlóságok a bal kamra fokozott nyomásterhelésének megszüntetését követő molekuláris, strukturális és funkcionális változásokban aortaszűkített patkányokban

Bálint Tímea¹, Ruppert Mihály¹, Barta Bálint András^{1, 3, 4}, Korkmaz-Icöz Sevil⁵, Loganathan Sivakkanan⁵, Oláh Attila¹, Sayour Alex Ali¹, Benke Kálmán^{2, 6}, Nagy Dávid¹, Karck Matthias⁵, Schilling Oliver³, Merkely Béla², Szabó Gábor^{5, 6}, Radovits Tamás¹



Szerzői video-összefoglaló

¹Semmelweis Egyetem, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Kísérletes Kardiológiai és Sebészeti Műtéttani Tanszék, Budapest

²Semmelweis Egyetem, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Budapest

³Albert Ludwig Egyetem, Sebészeti Patológiai Intézet, Freiburg, Németország

⁴Albert Ludwig Egyetem, Biológiai Kar, Freiburg, Németország

⁵Ruprecht–Karl Egyetem, Szívsebészeti Klinika, Heidelberg, Németország

⁶Department of Cardiac Surgery, University Hospital Halle (Saale), Szívsebészeti Klinika Halle, Németország

Levelezési cím:

Dr. Bálint Tímea, 1122 Budapest, Városmajor utca 68. E-mail: balint.timea09@gmail.com

Bevezetés: Számos klinikai megfigyelés igazolja a nem befolyásoló szerepét a fokozott nyomásterhelés megszüntetését követő kardiális reverz remodelláció folyamatában, azonban ezeket a vizsgálatokat különböző tényezők korlátozzák. Ezért célul tűztük ki, hogy standard laboratóriumi körülmények között vizsgáljuk meg a nemi különbségeket és hasonlóságokat egy releváns kisállatmodellben.

Módszerek: Hím és nőstény patkányokban a bal kamra fokozott nyomásterhelését az abdominalis aorta műtéti beszűkítésével (abdominal aortic banding, AB) idéztük elő 6 és 12 hét időtartamra. Korban illesztett, áloperált állatok szolgáltak kontrollként. A 6. héten a szűkület eltávolításával (debanding) szüntettük meg a nyomásterhelést. A miokardiális remodelláció különböző aspektusait echokardiográfiával, nyomás-térfogat analízissel, hisztológiával, qRT-PCR-rel, valamint proteomikai vizsgálattal jellemeztük.

Eredmények: Az AB-csoportokat mindkét nemben kifejezett szívizom-hipertrófia, emelkedett főtális génexpresszió és fokozott fibrózis jellemezte a 6. héten. A szerkezetbeli átépülés mellett, bár a szisztolés funkció megtartott volt, az aktív relaxáció jelentősen károsodott. Azonban a szisztolés funkció dekompenzációja és a diasztolés funkció további romlása csak a hím AB-állatoknál következett be a 12. héten. Az AB mindkét nem esetén hasonló proteomikai változásokhoz vezetett a 6. hétre, míg a 12. hétre jellegzetes nemi különbségek alakultak ki. A nyomásterhelés megszüntetése után, a szívizom-hipertrófia visszaalakulása és a diasztolés funkció normalizációja mindkét nemben hasonló mértékben ment végbe. Azonban a nőstényekben a fibrózis, a főtális génexpresszió és a proteomikai változások nagyobb mértékű visszaalakulást mutattak a hím állatokhoz képest. A nyomásterhelés megszüntetése a hímeknél funkcionális szinten

Készült Ruppert et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2022; 323(1): H204–H222. közleményének felhasználásával a The American Physiological Society Kiadó engedélye alapján.

A kézirat 2024. 06. 04-én érkezett a szerkesztőségbe, 2024. 10. 25-én került elfogadásra.

okozott nagyobb antiremodellációs hatást, mivel a nyomásterhelés megszűntetése erőteljesen gátolta a progresszív funkcionális hanyatlást a hímeknél.

Következtetések: A nyomásterhelés megszűntetése jelentős reverz remodelációhoz vezetett mindkét nemből. A nőstényekben a fibrózis, a főtájis génexpresszió és a proteomikai változások nagyobb mértékű visszaalakulást mutattak. A hímeknél funkcionális szinten alakult ki nagyobb reverz remodelációs hatás.

Kulcsszavak: miokardiális hipertrófia, nemi különbségek, proteomika

Sex similarities and differences in the reverse and anti-remodeling effect of pressure unloading therapy in a rat model of aortic banding and debanding

Background: Investigating the effect of sex on pressure unloading therapy in a clinical scenario is limited by several non-standardized factors. Hence, we sought to study sex-related similarities and differences under laboratory conditions.

Methods: Pressure overload was induced in male and female rats by aortic banding (AB) for 6 and 12 weeks. Age-matched sham operated animals served as controls. Pressure unloading was performed by aortic debanding at week 6. Different aspects of myocardial remodeling were characterized by echocardiography, pressure-volume analysis, histology, qRT-PCR and explorative proteomics.

Results: Hypertrophy, increased fetal gene expression, interstitial fibrosis, and prolonged active relaxation were noted in the AB groups at week 6 in both sexes. However, decompensation of systolic function and further deterioration of diastolic function only occurred in male AB rats at week 12. AB induced similar proteomic alterations in both sexes at week 6, while characteristic differences were found at week 12. After debanding, regression of hypertrophy and recovery of diastolic function took place to a similar extent in both sexes. Nevertheless, fibrosis, transcription of β -to- α myosin-heavy chain ratio, and myocardial proteomic alterations were reduced to a greater degree in females compared to males. Pressure unloading exposes a more pronounced anti-remodeling effect on the functional level in males, which is attributed to the more progressive functional deterioration in AB animals.

Conclusions: Pressure unloading exposes reverse and anti-remodeling properties in both sexes. Female sex is associated with greater reversibility of fibrosis, fetal gene expression, and proteomic alterations. Nevertheless, pressure unloading exposes a more pronounced anti-remodeling effect on the functional level in males.

Keywords: myocardial hypertrophy, sex differences, proteomics

Bevezetés

A férfi és a női nemnek meghatározó szerepe van a kardiovaszkuláris betegségekben, többek között a fokozott nyomásterhelés által kiváltott bal kamrai (BK) szívizom-hipertrófiában (BKH) is. Klinikai megfigyelések szerint az aortastenosis (AS) élő nőkre kisebb BK-i méretek, a BK koncentrikusabb geometriája és nagyobb mértékben megtartott szisztolés funkció jellemző a férfi betegekhez képest (1–4). Továbbá AS-es betegekből származó biopsziával nyert szívizomminták kisebb mértékű fibrózist mutattak nők esetében (5).

A nyomásterhelést csökkentő beavatkozások hatására a myocardiumban visszafejlődhetnek a fokozott hemodinamikai terhelés által indukált elváltozások, amit reverz remodelációnak nevezünk. Jelenleg kevés adat áll rendelkezésre arról, hogy a nyomástúlterhelésre adott válaszhoz hasonlóan a reverz remodeláció során is tapasztalható-e jelentősebb eltérés a nemek között. Ezzel kapcsolatos, az AS-ben szenvedő, sebészi vagy transzkatóleres aortabílytű-cserén (SAVR vagy TAVI) átesett betegek körében végzett vizsgálatok ellentmondásos eredményeket mutat-

nak. Egyes vizsgálatok szerint SAVR műtét után a nők rövid és hosszú távú mortalitása nagyobb, míg TAVI-t követően a halálozási arányuk hasonló vagy alacsonyabb a férfiakéhoz képest (6–9). Néhány közleményben leírták, hogy a nyomáscsökkentő terápiák hatására a BKH a nők esetében nagyobb mértékben csökkent, azonban más vizsgálatok nem találtak a nemek között jelentős különbséget (10, 11). Egy korábbi tanulmányban, SAVR/TAVI-t követő szív-mágnesesrezonanciás eljárással a miokardiális fibrózis visszafejlődésében a női nem előnyét figyelték meg (11). Azonban továbbra is vitatott, hogy a SAVR/TAVI beavatkozásokból a férfi vagy női betegek profitálnak-e jobban (12, 13).

Az eltérő klinikai megfigyeléseket számos nemhez köthető tényező magyarázhatja. Feltételezhető, hogy SAVR esetén a kisebb anatómiai méretek megnehezítik a műtéti eljárást, ami hozzájárulhat a nőknél megfigyelt kedvezőtlenebb kimenetelhez, míg a katéteres beavatkozásokat nem befolyásolják a nemek közötti méretkülönbségek (7). A férfi dominanciájú koszorúér-betegség önmagában jelentősen hátrálthatja a myocardium re-

verz remodellációját (14). Emellett az AS-sel diagnosztizált nőkre jellemző, férfiakéhoz képest magasabb életkor és magasabb aortabillentyű-grádiens szintén befolyásolhatják a klinikai vizsgálatok eredményét (11, 15). A reverz remodelláció mellett a nyomásterhelés megszüntetése antiremodellációs hatást is kifejezhet. Egy jól időzített SAVR/TAVI megakadályozhatja a betegség további szerkezeti és funkcionális romlással járó progresszióját, ám ennek klinikai vizsgálata etikai megfontolások miatt korlátozott.

A részletezett befolyásoló faktorok és etikai okok miatt további experimentális vizsgálatok szükségesek a nemi szerepek részletesebb feltérképezésére. Kisállatokon korábban már beállítottuk a hasi aorta műtéti beszűkítésének (abdominal aortic banding, AB) és a szűkítés felengedésének (debanding) a modelljét, a fokozott nyomásterhelés okozta remodelláció és a nyomásterhelés megszüntetésével járó reverz remodelláció vizsgálatára (16, 17).

A fentiek alapján, jelen tanulmányunkban célul tűztük ki a nyomásterhelés csökkentése által kiváltott reverz és antiremodelláció esetleges nemi különbségeinek vizsgálatát hasi AB és debanding kisállatmodelljein.

Módszerek

Állatok

Kísérletünket a nemzetközi állatok tartásáról és felhasználásáról szóló irányelvek (210/63/EU EU-irányelv; Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, US National Institutes of Health 1996; 85-23) szerint végeztük. Hím (n=49; 5 hetes korú; 150-160 g súlyú) és premenopauzában lévő nőstény (n=45; 5 hetes korú; 140-150 g súlyú) Sprague–Dawley patkányokat használtunk, amelyeket standard laboratóriumi körülmények között tartottunk.

A hasi aorta műtéti beszűkítése

A fokozott nyomásterhelést a hasi aorta műtéti beszűkítésével (AB) hoztuk létre. A hasi aorta szuprarenális szakaszát minden AB-állat esetében egy 22 G-s tű segítségével standard méretűre szűkítettük be. A kontrollként szolgáló, áloperált állatok (sham) a szűkítést leszámítva azonos beavatkozáson estek át (18).

A hasi aortaszűkület eltávolítása

Az AB műtétet követő 6. héten mind a hím, mind a nőstény patkányok egy részénél eltávolítottuk a hasi aortán szűkületet kiváltó fonalat (debanding). Az AB és debanding műtéteket, valamint az áloperációkat is izoflurán anesztéziában végeztük. A posztoperatív fájdalomcsillapítás céljából sc. buprenorfininjekciót (0,05 mg/kg) alkalmaztunk.

Kísérleti csoportok

Vizsgálatunkban 10 csoportba osztottuk a patkányokat. Az áloperált állatok egy részét 6 hétig (Sham-6hét: hím

n=9; nőstény n=8), másik részét 12 hétig (Sham-12hét: hím n=9; nőstény n=9) követtük. Az aortaszűkítésen át esett állatokat hasonlóan 6 (AB-6hét: hím n=10; nőstény n=8), illetve 12 (AB-12hét: hím n=10; nőstény n=8) hétig követtük. További két csoport állatainál először AB műtétet végeztünk, majd a posztoperatív 6. héten eltávolítottuk az aortaszűkületet kiváltó fonalat, és a 12. hét végéig követtük az állatokat (Debanded: hím n=11; nőstény n=12).

Echokardiográfia

A beavatkozások előtt, majd a 3., 6., 9. és 12. héten szívlultrahangos méréseket végeztünk izofluránanesthézia mellett (19). Kétdimenziós parasternalis hossz- és rövid tengelyi (a papilláris izmok középső harmadának magasságában), valamint M-módú felevételeket készítettünk 21 MHz-es lineáris transzducer és Vevo 2100 ultrahang készülék (FujiFilm VisualSonics, Inc., Toronto, ON, Canada) segítségével. Minden paraméter esetén három, egymást követő szív ciklus adatait vettük figyelembe, és ezeket átlagoltuk. Meghatároztuk a BK-i végdiasztolés (left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD) és végszisztolés (left ventricular end-systolic diameter, LVESD) belső átmérőket, valamint a BK elülső (anterior wall thickness, AWT), illetve hátulsó falvastagságát (posterior wall thickness, PWT) mind diasztolében (d), mind szisztolében (s). A BK-i szívizomtömeget (left ventricular mass, LV_{mass}) a Deveroux-képlet alapján számítottuk ki (20).

Bal kamrai hemodinamikai vizsgálat

Invazív nyomás-térfogat (P-V) analízist végeztünk a kísérleti időszak lejártakor (a 6. vagy a 12. héten) (19). Az állatokat izoflurán gázzal altattuk el, majd endotrachealis intubáció után mesterségesen lélegeztettük. A 2-Fr átmérőjű nyomás-konduktancia mikrokatétert (SPR-838, Millar Instruments, Houston, Tx, USA) a jobb oldali arteria carotis communis felől irányítottuk az állatok bal kamrájába a nyomás folyamatos monitorozása mellett. Az alábbi paramétereket határoztuk meg: szisztolés (systolic arterial blood pressure, SBP) és diasztolés artériás nyomás (diastolic arterial blood pressure, DBP), artériás középnyomás (mean arterial pressure, MAP), BK-i végszisztolés (left ventricular end-systolic pressure, LVESP) és végdiasztolés (left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP) nyomás, szívfrekvencia (heart rate, HR), BK-i végszisztolés (left ventricular end-systolic volume, LVESV) és végdiasztolés (left ventricular end-diastolic volume, LVEDV) térfogat, verőtérfogat (stroke volume, SV), perctérfogat (cardiac output, CO), ejekciós frakció (ejection fraction, EF), artériás elasztancia (arterial elastance, E_a , $E_a = LVESP/SV$ képlet alapján), valamint a BK aktív relaxációs időkonstansa (Tau, a Glantz-módszer alapján).

A vena cava inferior kompressziójával megkaptuk az elő- és utóterheléstől független kontraktilitási paramétereket, mint a végszisztolés P-V összefüggés egye-

nesének meredekségét (end-systolic P-V relationship, ESPVR), valamint a verőmunka-végdiasztolés térfogat összefüggés egyenesének meredekségét (preload recruitable stroke work, PRSW). A miokardiális falme-revség jellemzésére a végdiasztolés P-V összefüggés egyenesének meredekségét (end-diastolic P-V relationship, EDPVR) használtuk. A BK hatékonyságát a ventrikuloarteriális kapcsolás (ventricular-arterial coupling, VAC, $VAC = E_a/EPVR$) kiszámításával becsültük meg.

A P-V mérések végeztével az állatokat kivézetéssel eutanizáltuk, majd szívtömeget és tibiahosszt mértünk, amelyekből meghatároztuk a szívtömeg tibiahosszra normalizált indexét (heart weight-to-tibial length, HW/TL).

Szövettan

A szövettani feldolgozás során a hematoxilin-eozinnal festett BK-i mintákon a cardiomyocytátmérők (cardiomyocyte diameter, CD) mérésével vizsgáltuk a miokardiális hipertrófia kialakulását (17). A fibrózis meghatározásához picosirius-vörös festést végeztünk, majd ImageJ (NIH, Bethesda, MD) szoftver segítségével számszerűsítettük a fibrotikus területeket (17).

Génexpressziós vizsgálatok

BK-izommintákon

A BK-i mRNS-vizsgálatokhoz a miokardiális mintákat homogenizáltuk, majd RNS-t izoláltunk, és reverz transzkripció után a cDNS-mintákból kvantitatív valós idejű polimeráz-láncreakciót (qRT-PCR) végeztünk (21). A pitvari natriuretikus peptid (ANP), valamint az α - és a β -miozin nehézlánc (α -MHC, β -MHC) gének expresszióját vizsgáltuk. A célmolekulák mRNS-expresszióját a gliceraldehid-3-foszfát-dehidrogenáz (GAPDH) referenciagénre normalizáltuk.

Exploratív proteomika

A mélyfagyasztott BK-izommintákat lizáló folyadékban homogenizáltuk. A mintafeldolgozást a korábban leírtaknak megfelelően az SP3 protokoll előírásai szerint végeztük (22, 23). 16-plex TMT (Thermo Scientific) jelölő reagenssel ellátott mintáinkat Agilent 1100 hplc rendszeren prefrakcionáltuk, majd a frakciókat Q-Exact plus (Thermo Scientific) tömegspektrométerrel analizáltuk. A tömegspektrumokat a MaxQuant 1.6.17.0 verziójával elemeztük (24). A számszerűsített peptidintenzitások bemutatásához az MSstatsTMT, R programcsomagot alkalmaztuk (25). A proteinintenzitások számításához csak proteotipikus peptideket használtunk. Analízisünkben csak azokat a fehérjéket vizsgáltuk, amelyeket a mérések kétharmadában sikeresen azonosítottunk.

Statisztika

Az adatainkat átlagérték \pm SEM formájában adtuk meg. Kétmintás t-próbát, illetve Mann–Whitney-féle U-teszt-

et végeztünk két független csoport összehasonlítására az adatok normál eloszlásának függvényében. A „nem” és az „idő” faktorok alkalmazásával kétutas varianciaanalízist (ANOVA) alkalmaztunk a négy kontroll- és a négy AB-csoport összevetésére, majd Tukey-féle post hoc teszttel ítéltük meg a csoportok közötti különbségeket. A kontrollállatokra normalizált nem szerinti AB-6hét-, AB-12hét- és debanded csoportokat egyutas ANOVA-teszttel hasonlítottuk össze. A reverz és anti-remodelláció megítéléséhez a debanded állapotokban az AB-6hét- és AB-12hét-csoportokhoz képest látott változásokat százalékosan ($\Delta\Delta$) szemléltettük.

A kísérleti csoportok proteomikai profiljainak megkülönböztetésére dimenzióredukciós módszert alkalmaztunk (sPLS-DA, MixOmics R csomag) (26). Az eredményes szeparációhoz leginkább hozzájáruló 15-13 proteint kinyertük a modellből. A különböző csoportokban szignifikáns eltérést mutató proteineket Limma R csomaggal (27) azonosítottuk, számukat a nemek között χ^2 -próbával hasonlítottuk össze. A génontológiai analízist clusterProfiler R csomag segítségével végeztük (28).

A statisztikai szignifikancia kritériumaként $p < 0,05$ értéket használtunk.

Eredmények

Nemi különbségek és hasonlóságok normál és nyomástülszűkített állapot esetén

A Sham-6hét- és Sham-12hét-csoport hím és nőstény állatait összehasonlítva jellegzetes nemi eltérések mutatkoztak. A hím patkányok testtömege jelentősen meghaladta a hasonló korú nőstény csoportokét. Ennek megfelelően a szívizomtömeg, a diasztolében mért falvastagság, a BK-i üregátmérők, a cardiomyocytátmérő és a szívizomtömeg/tibiahossz arány szintén nagyobb volt a hím állatokban a nőstényekéhez képest (1. táblázat). Továbbá emelkedett BK-i β/α -MHC génexpressziós arány jellemezte a hím kontrollcsoportot a nőstényekkel összehasonlítva (1. táblázat). A funkciót tekintve azonban az áloperált nőstények esetén észleltünk nagyobb LVESP-t, E_a -t, valamint rövidebb aktív relaxációs időt a hím csoportokhoz képest (1. táblázat). Az aortaszűkített csoportokban a kontrollállatokhoz hasonló nemi különbségeket találtunk. Az AB-6hét- és az AB-12hét-hímek jelentősen nagyobb testtömegeg, szívizomtömegeg, kamrai üregátmérőkkel és β/α -MHC génexpressziós aránnyal rendelkeztek, mint a korban megfelelő aortaszűkített nőstények (2. táblázat). A nyomásterhelés hatására a 6. hétről a 12. hétre a BK-i kontraktilitás (PRSW) a hím patkányokban jelentősen csökkent, míg a nőstényeknél ez nem volt megfigyelhető. Ez a változás a hímeknél a VAC romlásához és az EF csökkenéséhez vezetett (2. táblázat). Továbbá a hím AB-csoportokban nagyobb mértékben nőtt az aktív relaxációs idő és a BK-i végdiasztolés nyomás, amely súlyosabb diasztolés diszfunkció kialakulására utalt a nőstény társaikhoz képest (2. táblázat).

1. TÁBLÁZAT. Hím és nőstény áloperált kontrollállatok összehasonlítása a 6. és a 12. héten

	Sham-6hét		Sham-12hét		Kétutas ANOVA		
	Hím	Nőstény	Hím	Nőstény	p (nem)	p (kor)	p (interakció)
Testtömeg, g	486±11	288±9*	595±9 [#]	320±6*	<0,001	<0,001	<0,001
HW/TL, g/cm	0,33±0,01	0,24±0,01*	0,36±0,01 [#]	0,25±0,01*	<0,001	0,003	0,467
HR, ütés/min	357±7	357±10	356±5	364±12	0,631	0,754	0,705
MAP, Hgmm	123±4	125±3	118±4	118±4	0,779	0,133	0,743
SBP, Hgmm	144±5	146±4	137±5	138±4	0,675	0,111	0,901
DBP, Hgmm	112±	115±3	109±3	108±5	0,833	0,172	0,656
E _a , Hgmm/μl	0,79±0,05	1,04±0,10	0,70±0,05	0,90±0,05	0,002	0,088	0,704
LVEDP, Hgmm	3,6±0,4	3,6±0,2	3,7±0,4	3,4±0,3	0,660	0,939	0,624
LVEBP, Hgmm	139±3	140±4	128±3	136±3	0,033	0,109	0,896
LVEDV, μl	316±17	269±26	334±20	298±10	0,035	0,229	0,782
LVESV, μl	138±13	130±16	144±13	139±6	0,570	0,558	0,886
SV, μl	178±16	140±11	190±11	159±9	0,008	0,200	0,777
CO, ml/min	64±6	49±3	68±5	57±3	0,010	0,173	0,670
EF, %	56±3	55±2	58±2	53±2	0,253	0,898	0,509
Tau, ms	14,1±0,4	12,5±0,6	13,1±0,4	12,1±0,4	0,007	0,143	0,503
ESPVR, Hgmm/μl	1,73±0,21	2,03±0,26	1,48±0,21	2,08±0,15	0,036	0,639	0,468
PRSW, Hgmm	79±4	91±7	75±6	85±7	0,083	0,466	0,836
EDPVR, Hgmm/μl	0,037±0,005	0,043±0,006	0,028±0,004	0,032±0,003	0,326	0,041	0,816
VAC	0,52±0,07	0,55±0,07	0,53±0,06	0,45±0,04	0,731	0,519	0,367
LV _{mass} , mg	1057±52	694±37*	1199±40	748±27*	<0,001	0,021	0,277
AWTd, mm	1,97±0,04	1,74±0,05*	1,93±0,07	1,70±0,06*	<0,001	0,560	0,994
AWTs, mm	3,08±0,09	2,95±0,14	3,25±0,08	2,95±0,10	0,044	0,402	0,398
PWTd, mm	1,83±0,09	1,69±0,09	2,05±0,10	1,86±0,07	0,066	0,024	0,879
PWTs, mm	2,93±0,13	2,82±0,07	3,28±0,08 [#]	2,98±0,05	0,031	0,004	0,299
LVEDD, mm	8,68±0,21	7,17±0,16*	8,86±0,18	7,27±0,20*	<0,001	0,461	0,849
LVEDS, mm	5,41±0,18	3,97±0,23*	5,09±0,13	4,01±0,19*	<0,001	0,438	0,330
CD, μm	14,5±0,5	13,3±0,3	15,3±0,4	13,5±0,4*	0,001	0,209	0,406
Fibrózis, %	3,6±0,1	3,7±0,1	4,0±0,18	3,9±0,2	0,936	0,049	0,546
ANP	1,04±0,30	1,19±0,23	1,64±0,33	1,13±0,25	0,943	0,457	0,300
β/α-MHC	2,01±0,35	1,36±0,29	3,24±0,33 [#]	1,93±0,14*	0,002	0,005	0,297

Rövidítések: α-MHC: α-miozin nehézlánc; ANP: pitvari natriuretikus peptid; AWTd: elülső falvastagság diasztolében; AWTs: elülső falvastagság szisztolében; β-MHC: β-miozin nehézlánc; CD: cardiomyocytátmérő; CO: perctérfogat; DBP: diasztolés artériás nyomás; E_a: artériás elasztancia; EF: ejekciós frakció; EDPVR: végdiasztolés nyomás-térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; ESPVR: végszisztolés nyomás-térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; HR: szívfrekvencia; HW/TL: szívtömeg/tibiahossz; LVEDD: bal kamrai végdiasztolés átmérő; LVEDP: bal kamrai végdiasztolés nyomás; LVEDV: bal kamrai végdiasztolés volumen; LVEDS: bal kamrai végszisztolés átmérő; LVEBP: bal kamrai végszisztolés nyomás; LVESV: bal kamrai végszisztolés volumen; MAP: artériás középnyomás; PWTd: hátulsó falvastagság diasztolében; PWTs: hátulsó falvastagság szisztolében; PRSW: verőmunka-végdiasztolés térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; SBP: szisztolés artériás nyomás; SV: verőtérfogat; Tau: aktív relaxációs időkonstans; VAC: ventrikuloartériás kapcsolat

*p<0,05 Sham-6hét-hím vs. Sham-6hét-nőstény és Sham-12hét-hím vs. Sham-12hét-nőstény. [#]p<0,05 Sham-6hét-hím vs. Sham-12hét-hím és Sham-6hét-nőstény vs. Sham-12hét-nőstény. Minden adatot átlagérték ± SEM formájában adtuk meg. A félkövérrel kiemelt értékek szignifikáns változást jelölnek.

A nemek hatása a szerkezetbeli, a molekuláris és a funkcionális paraméterekre nyomásterhelés megszüntetése által indukált reverz és antiremodellációban

A debanded hím és nőstény állatok összehasonlítása a testtömeg, a BK-i izomtömeg, az elülső és hátulsó falvastagság, az üregátmérők, a CD és β/α-MHC génexpressziós arány szintén nagyobb értékeket mutattak

a hím csoportban (3. táblázat). Ezenfelül az interstitialis fibrózis is súlyosabbnak bizonyult a hím debanded állatokban a nőstény társaikéhoz képest (3. táblázat).

A kor mint befolyásoló faktor kizárására a debanded, az AB-6hét- és az AB-12hét-csoportokat a megfelelő kontrollcsoportokra normalizáltuk, ezután végeztünk összehasonlítást a reverz és antiremodelláció kimutására (2. és 4. ábra; 4. és 5. táblázat).

2. TÁBLÁZAT. Hím és nőstény aortaszűkített állatok összehasonlítása a 6. és a 12. héten

	AB-6hét		AB-12hét		Kétutas ANOVA		
	Hím	Nőstény	Hím	Nőstény	p (nem)	p (kor)	p (interakció)
Testtömeg, g	479±7	314±12*	599±11#	336±11*	<0,001	<0,001	<0,001
HW/TL, g/cm	0,44±0,01	0,32±0,02*	0,47±0,01	0,31±0,02*	<0,001	0,008	0,240
HR, ütés/min	371±11	365±12	369±6	384±7	0,656	0,364	0,256
MAP, Hgmm	173±3	186±8	172±5	180±8	0,081	0,573	0,637
SBP, Hgmm	217±5	232±11	213±6	224±10	0,107	0,446	0,835
DBP, Hgmm	150±3	163±7	152±5	158±7	0,109	0,337	0,555
E _a , Hgmm/μl	1,19±0,09	1,23±0,15	1,41±0,12	1,50±0,12	0,620	0,034	0,716
LVEDP, Hgmm	5,2±0,8	5,3±0,8	7,7±1,3	3,0±0,4*	0,020	0,907	0,018
LVESP, Hgmm	199±5	202±9	201±5	210±7	0,358	0,450	0,605
LVEDV, μl	341±17	301±21	357±18	293±7	0,005	0,788	0,481
LVESV, μl	164±9	127±15	201±10	148±7*	<0,001	0,010	0,463
SV, μl	176±12	174±11	157±14	145±8	0,560	0,055	0,712
CO, ml/min	65±4	64±5	58±5	56±3	0,753	0,112	0,906
EF, %	52±2	59±3	43±2#	50±2	0,006	<0,001	0,838
Tau, ms	18,1±1,0	15,2±1,0	19,6±0,7	15,2±1,3*	<0,001	0,453	0,418
ESPVR, Hgmm/μl	3,23±0,36	4,22±0,89	1,87±0,15	3,92±0,46*	0,004	0,106	0,292
PRSW, Hgmm	134±12	165±15	85±12#	136±13*	0,002	0,003	0,140
EDPVR, Hgmm/μl	0,040±0,008	0,054±0,010	0,047±0,007	0,047±0,007	0,342	0,802	0,581
VAC	0,42±0,07	0,34±0,04	0,80±0,10#	0,41±0,05*	0,003	0,003	0,040
LV _{mass} , mg	1424±40	1022±53*	1748±74#	1075±86*	<0,001	0,007	0,046
AWTd, mm	2,59±0,09	2,23±0,10	2,38±0,07	2,29±0,12	0,019	0,464	0,195
AWTs, mm	3,87±0,14	3,45±0,16	3,40±0,12	3,58±0,10	0,417	0,238	0,027
PWTd, mm	2,26±0,07	2,25±0,14	2,38±0,10	2,21±0,17	0,454	0,754	0,530
PWTs, mm	3,66±0,11	3,67±0,19	3,50±0,11	3,43±0,13	0,823	0,137	0,743
LVEDD, mm	8,26±0,22	7,19±0,24*	9,58±0,19#	7,35±0,23*	<0,001	0,002	0,014
LVESD, mm	4,96±0,27	4,10±0,27	6,60±0,25#	4,21±0,31*	<0,001	0,004	0,009
CD, μm	18,0±0,3	16,1±0,6*	19,6±0,5	18,1±0,3#	<0,001	<0,001	0,621
Fibrózis, %	5,3±0,6	5,5±0,5	8,8±0,7#	6,7±0,6	0,151	<0,001	0,065
ANP	8,49±1,83	8,5±2,9	13,9±2,3	7,3±1,7	0,151	0,359	0,140
β/α-MHC	5,42±0,75	4,61±1,29	7,87±1,06	3,47±0,61*	0,010	0,066	0,489

Rövidítések: α-MHC: α-miozin nehézlánc; ANP: pitvari natriuretikus peptid; AB: aortic banding; AWTd: elülső falvastagság diasztolében; AWTs: elülső falvastagság szisztolében; β-MHC: β-miozin nehézlánc; CD: cardiomyocitaátmérő; CO: perctérfogat; DBP: diasztolés artériás nyomás; E_a: artériás elasztancia; EF: ejekciós frakció; EDPVR: végdiasztolés nyomás-térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; ESPVR: végszisztolés nyomás-térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; HR: szívfrekvencia; HW/TL: szív-tömeg/tibiahossz; LVEDD: bal kamrai végdiasztolés átmérő; LVEDP: bal kamrai végdiasztolés nyomás; LVEDV: bal kamrai végdiasztolés volumen; LVESD: bal kamrai végszisztolés átmérő; LVESP: bal kamrai végszisztolés nyomás; LVESV: bal kamrai végszisztolés volumen; MAP: artériás középnyomás; PWTd: hátulsó falvastagság diasztolében; PWTs: hátulsó falvastagság szisztolében; PRSW: verőmunka-végdiasztolés térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; SBP: szisztolés artériás nyomás; SV: verőtérfogat; Tau: aktív relaxációs időkonstans; VAC: ventrikuloartériás kapcsolat. *p<0,05 AB-6hét-hím vs. AB-6hét-nőstény és AB-6hét-hím vs. Sham-6hét-hím. #p<0,05 AB-6hét-hím vs. AB-12hét-hím és AB-6hét-nőstény vs. AB-12hét-nőstény. Minden adatot átlagérték ± SEM formájában adtunk meg. A félkövéren kiemelt értékek szignifikáns változást jelölnek

Reverz remodeláció

A reverz remodeláció mértékét úgy határoztuk meg, hogy összehasonlítottuk a normalizált debanded csoportban a normalizált AB-6hét-csoporthoz képest bekövetkezett változásokat. Mindkét nem esetében a nyomásterhelés megszüntetése jelentősen csökkentette a nyomásértékeket (MAP, SBP, DBP), továbbá a bal kamrai izomtömeget, a HW/TL arányt, valamint az ANP és a β/α-MHC génexpressziós arányt is (1–3. ábra; 4. táblázat). Ezzel szemben csak a nőstény debanded állatok-

nál figyeltünk meg csökkenő tendenciát az interstitialis fibrózis tekintetében (2D ábra). A nyomásterhelés kompenzálásaként a kezdeti fokozott kontraktilitás (PRSW) mindkét nemből egyaránt mérséklődött a szűkület eltávolítása után (4C és 4D ábra). A diasztolés aktív relaxáció időtartama is lerövidült, azonban markáns javulást csak a hím debanded állatoknál észleltünk (3D ábra). A hím és nőstény debanded csoportok közvetlen összehasonlításával megállapítottuk, hogy a szűkület felengedése során a nőstényekben nagyobb változások

3. TÁBLÁZAT. Hím és nőstény debanded állatok összehasonlítása

	Debanded		p (hím vs. nőstény)
	Hím	Nőstény	
Testtömeg, g	557±16	332±8	<0,001
HW/TL, g/cm	0,38±0,01	0,28±0,01	<0,001
HR, ütés/min	365±6	372±9	0,514
MAP, Hgmm	134±4	132±5	0,766
SBP, Hgmm	161±4	159±6	0,619
DBP, Hgmm	121±4	119±5	0,855
E _a , Hgmm/μl	0,96±0,08	1,02±0,08	0,570
LVEDP, Hgmm	4,5±0,7	3,5±0,37	0,165
LVEBP, Hgmm	157±4	151±5	0,491
LVEDV, μl	326±19	292±15	0,280
LVESV, μl	154±11	136±11	0,283
SV, μl	173±12	156±10	0,267
CO, ml/min	63±4	58±3	0,306
EF, %	53±2	54±2	0,832
Tau, ms	13,9±0,6	12,4±0,5	0,082
ESPVR, Hgmm/μl	1,82±0,12	2,62±0,25	0,014
PRSW, Hgmm	85±9	102±8	0,166
EDPVR, Hgmm/μl	0,035±0,004	0,040±0,003	0,268
VAC	0,54±0,04	0,43±0,05	0,097
LV _{mass} , mg	1285±44	793±37	<0,001
AWTd, mm	2,09±0,05	1,88±0,07	0,042
AWTs, mm	3,29±0,13	3,11±0,12	0,313
PWTd, mm	2,14±0,08	1,90±0,07	0,035
PWTs, mm	3,36±0,13	3,10±0,10	0,121
LVEDD, mm	8,78±0,15	7,14±0,18	<0,001
LVEDS, mm	5,41±0,23	4,05±0,19	<0,001
CD, μm	16,1±0,5	14,8±0,4	0,048
Fibrózis, %	6,0±0,4	4,6±0,3	0,015
ANP	3,27±0,86	1,76±0,40	0,129
β/α-MHC	5,11±0,61	2,03±0,23	<0,001

Rövidítések: α-MHC: α-miozin nehézlánc; ANP: pitvari natriuretikus peptid; AWTd: elülső falvastagság diasztolában; AWTs: elülső falvastagság szisztolában; β-MHC: β-miozin nehézlánc; CD: cardiomyocytáátmérő; CO: percértérfogat; DBP: diasztolés artériás nyomás; E_a: artériás elastancia; EF: ejekciós frakció; EDPVR: végdiasztolés nyomás-térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; ESPVR: végszisztolés nyomás-térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; HR: szívfrekvencia; HW/TL: szívtömeg/tibiahossz; LVEDD: bal kamrai végdiasztolés átmérő; LVEDP: bal kamrai végdiasztolés nyomás; LVEDV: bal kamrai végdiasztolés volumen; LVEDS: bal kamrai végszisztolés átmérő; LVEBP: bal kamrai végszisztolés nyomás; LVESV: bal kamrai végszisztolés volumen; MAP: artériás középnyomás; PWTd: hátulsó falvastagság diasztolában; PWTs: hátulsó falvastagság szisztolában; PRSW: verőmunka-vegdiasztolés térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; SBP: szisztolés artériás nyomás; SV: verőtérfogat; Tau: aktív relaxációs időkonstans; VAC: ventrikuloartériás kapcsolat. Minden adatot átlagérték ± SEM formájában adtunk meg. A félkövérrel kiemelt értékek szignifikáns változást jelölnek.

következtek be a BK-i β/α-MHC génexpressziós arányban, az LVEDS-ben és a fibrózisban, mint a hímeknél (5. táblázat). Ugyanakkor a szisztolés elülső falvastagság nagyobb mértékű csökkenését a hím debanded patkányok esetében figyeltük meg (5. táblázat). A többi paraméter mindkét nemből hasonló mértékű változást mutatott (5. táblázat).

Antiremodelláció

A nyomásterhelés megszüntetésével járó antiremodellációs hatás vizsgálatához összehasonlítottuk a normalizált debanded csoportokat a normalizált AB-12hét-csoportokkal. A hím és a nőstény debanded patkányoknál jelentős csökkenést észleltünk a MAP-, az SBP- és a DBP-értékekben. Emellett alacsonyabb volt az LV_{mass}, a HW/TL arány, a CD és az ANP-génexpressziós szint az AB-12hét-csoportokhoz képest (4. táblázat). Mindkét nem debanded csoportját rövidült aktív relaxációs idő jellemezte, azonban csak a debanded hímeknél figyeltük meg nagyobb EF-értékeket az AB-12hét-csoportokhoz képest (4. táblázat).

A hím és nőstény debanded állatok közvetlen összehasonlítása szerint a hímeknél nagyobb antiremodellációs hatás alakult ki az LVEDP, az EF, a Tau, a VAC és az LVEDS paraméterek esetében (5. táblázat). A nőstényeknél viszont a kontraktilitás (ESPVR, PRSW), valamint a HW/TL arány mutattak markánsabb változásokat.

A nemek hatása a bal kamrai proteomra kóros hipertrófia, illetve nyomásterhelés megszüntetése által indukált reverz és antiremodelláció esetén

A proteomikai vizsgálat összesen 2348 fehérjét azonosított. A dimenzióredukciós módszerrel mérsékelt különbség mutatkozott a kontroll, az AB-6hét-, az AB-12hét- és a debanded csoportok proteomjai között, amely szeparációhoz a leginkább hozzájáruló 15-13 fehérjét kiemeltük (5A és 5B ábra).

A fehérjék pontosabb összehasonlítása érdekében differenciálexpresszió-elemzést végeztünk (6A és 6B ábra). A fokozott nyomásterhelés által indukált miokardiális remodeláció mindkét nem AB-6hét- és AB-12hét-csoportjában hasonló mértékű változásokkal járt a fehérjék szintjén a kontrollállatokhoz képest (6A és 6B ábra). A GO:BP analízis alapján a nyomástülterhelés a 6. hétre mindkét nem esetén a zsírsavanyagcsere és a lipid katabolikus folyamatainak mérséklődéséhez vezetett (7A és 7B ábra).

A reverz remodeláció nemi különbségeit a fehérjék szintjén a debanded és a kontrollállatok összehasonlításával vizsgáltuk. Hat héttel a szűkület eltávolítása után a nőstényekben az előzetes nyomásterhelés által indukált proteomikai eltérések szinte teljesen visszaalakultak, míg a hímek esetén nem mutattak változást (6A és 6B ábra). A nyomásterhelés megszüntetése után a GO:BP analízis alapján a lipidanyagcsere kizárólag a nőstényekben állt helyre az AB-6hét-csoportokhoz

4. TÁBLÁZAT. Echokardiográfias és hemodinamikai paraméterek változásai fokozott nyomásterhelés által kiváltott remodelláció, valamint a nyomásterhelés megszüntetése által indukált reverz és antiremodelláció során hím és nőstény patkányokban

	Hím			Nőstény		
	AB-6hét	AB-12hét	Debanded	AB-6hét	AB-12hét	Debanded
ΔTesttömeg, %	99±1	101±2	94±3	109±4	105±4	104±2
ΔHR, %	104±3	104±2	102±2	102±3	106±2	102±2
ΔSBP, %	151±4	155±4	118±3**	159±7	162±8	115±4**
ΔDBP, %	134±2	140±5	111±4**	142±7	143±6	107±4**
ΔE _a , %	151±12	201±17	137±12#	118±14	167±14*	114±9#
ΔLVEDP, %	147±23	209±36	122±19	147±22	91±10*	101±10
ΔLVESP, %	149±4	157±4	123±3**	144±6	155±6	111±4**
ΔLVEDV, %	108±6	107±5	98±6	112±8	98±3	98±5
ΔLVESV, %	119±7	139±7	107±7#	98±12	106±5	98±8
ΔSV, %	99±7	83±7	91±6	124±8	92±5	98±6
ΔCO, %	102±6	85±8	92±5	129±11	97±6	100±6
ΔVAC, %	81±13	176±21*	119±8	62±7	91±11	95±11
ΔAWTd, %	133±4	123±4	108±3**	129±6	135±7	110±4#
ΔAWTs, %	128±5	104±4*	101±4*	117±5	122±4	106±4#
ΔPWTD, %	125±4	116±5	104±4*	133±8	119±9	102±4*
ΔPWTS, %	124±4	107±3*	102±4*	130±7	115±4	104±3*
ΔLVEDD, %	96±3	108±2*	99±2*	100±3	101±3	98±3
ΔLVESD, %	92±5	130±5*	106±5*	103±7	105±8	101±5

Rövidítések: AWTd: elülső falvastagság diasztolében; AWTs: elülső falvastagság szisztolében; CO: perctérfogat; DBP: diasztolés artériás nyomás; E_a: artériás elasztancia; EDPVR: végdiasztolés nyomás-térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; HR: szívfrekvencia; LVEDD: bal kamrai végdiasztolés átmérő; LVEDP: bal kamrai végdiasztolés nyomás; LVEDV: bal kamrai végdiasztolés volumen; LVESD: bal kamrai végszisztolés átmérő; LVESP: bal kamrai végszisztolés nyomás; LVESV: bal kamrai végszisztolés volumen; PWTD: hátulsó falvastagság diasztolében; PWTS: hátulsó falvastagság szisztolében; SBP: szisztolés artériás nyomás; SV: verőtérfogat; VAC: ventrikuloartériás kapcsolás

Az aortaszűkített (AB-6hét és AB-12hét) és debanded csoportokkal kapcsolatos változások a megfelelő áloperált csoportokra való normalizálás után kerültek felsorolásra mint Δ érték.

*p<0,05 vs. AB-6hét-hím. #p<0,05 vs. AB-12hét-hím.

Minden adatot átlagérték ± SEM formájában adtunk meg. A félkövéren kiemelt értékek szignifikáns változást jelölnek.

képest, részben a monokarbonsav és a lipid katabolikus folyamatainak felfelé szabályozásával (7A és 7B ábra).

A fehérjék szintjén a nyomásterhelés megszüntetésével járó antiremodellációs hatást a debanded és az AB-12hét-csoportok összehasonlításával vizsgáltuk. A hím és a nőstény debanded csoportokban a lipidanyagcsere aktivitása egyaránt csökkentnek bizonyult, azonban a GO:BP analízis talált más, nem specifikus eltéréseket is. A nőstényeknél a gyulladásos válaszhoz kapcsolódó fehérjék mutattak növekedett expressziót (7C ábra). A hím állatokat a cytoskeleton intenzív átalakulása jellemezte a sejtadhézióban szerepet játszó fehérjék emelkedett expressziójával. Továbbá a peptid bioszintézisében és transzlációjában részt vevő fehérjék a hím debanded csoportban mutattak csökkent expressziót (7C ábra).

Megbeszélés

Jelen tanulmányunk az első, amely standard, experimentális körülmények mellett vizsgálta a nemek közöt-

ti hasonlóságokat és különbségeket a nyomásterhelés megszüntetését követő kardiális reverz és antiremodelláció tekintetében.

Számos tanulmány már korábban is igazolta a nemek befolyásoló szerepét a szívizom-hipertrófia kialakulásában. Ugyanakkor kevésbé ismert, hogy a nyomásterhelés megszüntetését követő reverz remodellációban is megfigyelhetőek-e nem specifikus különbségek. Jelenleg kizárólag klinikai vizsgálatokra támaszkodhatunk, amelyek eredményei ellentmondásosak, és erejüket több tényező is korlátozhatja (11, 13, 29, 30). Az egyik fő limitáció, hogy az ösztrogén kardioprotektív hatásának következtében több tényező, amely a reverz remodellációra is hat, nemekre specifikus eloszlást mutat (11, 13, 29). Az életkor egy másik korlátozó faktor, hiszen a SAVR/TAVR kezelésben részesülő nőbetegek gyakran idősebbek a férfiaknál (29, 31, 32). Mindemellett az AS-ben szenvedő nőknél megfigyelt nagyobb aortabillentyű-grádiens tovább torzíthatja az eredményeket (15). Ezek együttesen jelentősen megnehezítik a nemek szerepének klinikai vizsgálatát. Továbbá a nyomásterhelés megszüntetésével járó antiremodellációs hatás klinikai körülmények között kevésbé vizsgál-

5. TÁBLÁZAT. A reverz és az antiremodelláció összehasonlítása hím és nőstény patkányokban a nyomásterhelés megszüntetése után

	Reverz remodeláció (Debanded vs. AB-6hét)			Antiremodelláció (Debanded vs. AB-12hét)		
	Hím	Nőstény	p (reverz remodeláció)	Hím	Nőstény	p (antiremodelláció)
ΔΔTesttömeg, %	-5,0±2,8	-4,6±2,2	0,931	-7,1±2,7	-1,0±2,3	0,100
ΔΔHW/TL, %	-21,6±1,6	-20,0±2,1	0,561	-18,8±1,6	-24,5±2,0	0,041
ΔΔHR, %	-1,3±1,7	0,2±2,4	0,548	-1,3±1,7	-3,1±2,3	0,536
ΔΔMAP, %	-19,3±2,2	-24,5±2,9	0,180	-22,2±2,1	-26,5±2,8	0,242
ΔΔSBP, %	-22,0±2,1	-27,7±2,8	0,130	-24,3±2,1	-29,2±2,7	0,173
ΔΔDBP, %	-17,2±2,7	-24,2±3,1	0,226	-20,7±2,6	-25,1±3,0	0,377
ΔΔE _a , %	-9,5±7,8	-3,8±7,4	0,659	-32,0±6,0	-31,8±5,2	0,902
ΔΔLVEDP, %	-17,1±12,6	-31,7±7,0	0,301	-41,6±8,9	10,5±11,3	0,002
ΔΔLVESP, %	-17,7±2,0	-22,5±2,5	0,252	-21,8±6,1	-28,1±2,3	0,069
ΔΔLVEDV, %	-9,3±5,2	-12,2±4,4	0,809	-8,7±5,2	-0,4±5,0	0,308
ΔΔLVESV, %	-10,0±6,2	0,4±8,4	0,345	-23,4±5,2	-7,6±7,7	0,122
ΔΔSV, %	-8,4±6,2	-21,4±4,9	0,113	10,1±7,5	7,0±6,6	0,760
ΔΔCO, %	-9,4±5,3	-22,6±4,3	0,061	8,2±6,3	3,0±5,6	0,545
ΔΔEF, %	0,6±3,7	-4,9±4,3	0,361	22,7±4,6	8,3±4,9	0,049
ΔΔTau, %	-17,4±3,6	-16,2±3,7	0,816	-29,3±3,1	-18,4±3,6	0,035
ΔΔESPVR, %	-34,3±4,4	-39,6±5,8	0,490	-3,1±6,5	-33,3±6,4	0,004
ΔΔPRSW, %	-33,7±6,7	-34,3±5,0	0,948	0,5±10,1	-25,4±5,6	0,030
ΔΔEDPVR, %	12,7±12,5	-1,1±6,3	0,314	-25,7±8,3	-15,6±5,4	0,301
ΔΔVAC, %	47,0±10	54,4±17,1	0,725	-32,7±4,6	3,9±11,5	0,013
ΔΔLV _{mass} , %	-20,5±2,7	-27,9±3,4	0,104	-26,5±2,5	-26,2±3,4	0,947
ΔΔAWTd, %	-18,9±1,9	-14,3±3,2	0,371	-12,5±2,0	-18,0±3,1	0,371
ΔΔAWTs, %	-20,9±3,0	-9,8±3,4	0,025	-3,1±3,7	-13,1±3,3	0,056
ΔΔPWTD, %	-16,5±3,2	-23,3±2,7	0,117	-10,2±3,4	-14,0±3,0	0,408
ΔΔPWTS, %	-17,5±3,2	-20,2±2,4	0,497	-4,1±3,8	-9,5±2,7	0,250
ΔΔLVEDD, %	3,2±1,8	-2,0±2,5	0,106	-8,3±1,6	-2,9±2,5	0,083
ΔΔLVESD, %	15,7±5,0	-2,3±4,6	0,015	-18,0±3,5	-4,0±4,5	0,025
ΔΔCD, %	-15,7±2,6	-9,5±2,4	0,094	-17,5±2,6	-18,1±2,2	0,848
ΔΔFibrózis, %	0,7±7,4	-23,9±5,3	0,012	-32,4±5,0	-32,3±4,7	0,989
ΔΔANP, %	-75,6±6,4	-78,4±4,9	0,739	-76,5±6,2	-75,9±5,4	0,942
ΔΔβ/α-MHC, %	-40,2±7,1	-69,0±3,5	0,002	-35,1±7,8	-41,5±6,5	0,537

Rövidítések: α-MHC: α-miozin nehézlánc; ANP: pitvari natriuretikus peptid; AWTd: elülső falvastagság diasztolében; AWTS: elülső falvastagság szisztolében; β-MHC: β-miozin nehézlánc; CD: cardiomyocitaátmérő; CO: perctérfogat; DBP: diasztolés artériás nyomás; E_a: artériás elasztancia; EF: ejekciós frakció; EDPVR: végdiasztolés nyomás-térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; ESPVR: végszisztolés nyomás-térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; HR: szívfrekvencia; HW/TL: szívtömeg/tibiahossz; LVEDD: bal kamrai végdiasztolés átmérő; LVEDP: bal kamrai végdiasztolés nyomás; LVEDV: bal kamrai végdiasztolés volumen; LVESD: bal kamrai végszisztolés átmérő; LVESP: bal kamrai végszisztolés nyomás; LVESV: bal kamrai végszisztolés volumen; MAP: artériás középnyomás; PWTD: hátulsó falvastagság diasztolében; PWTS: hátulsó falvastagság szisztolében; PRSW: verőmunka-végdiasztolés térfogat összefüggés egyenesének meredeksége; SBP: szisztolés artériás nyomás; SV: verőtérfogat; Tau: aktív relaxációs időkonstans; VAC: ventrikuloartériás kapcsolás. Minden adatot átlagérték ± SEM formájában adtunk meg. A félkövérrel kiemelt értékek szignifikáns változást jelölnek.

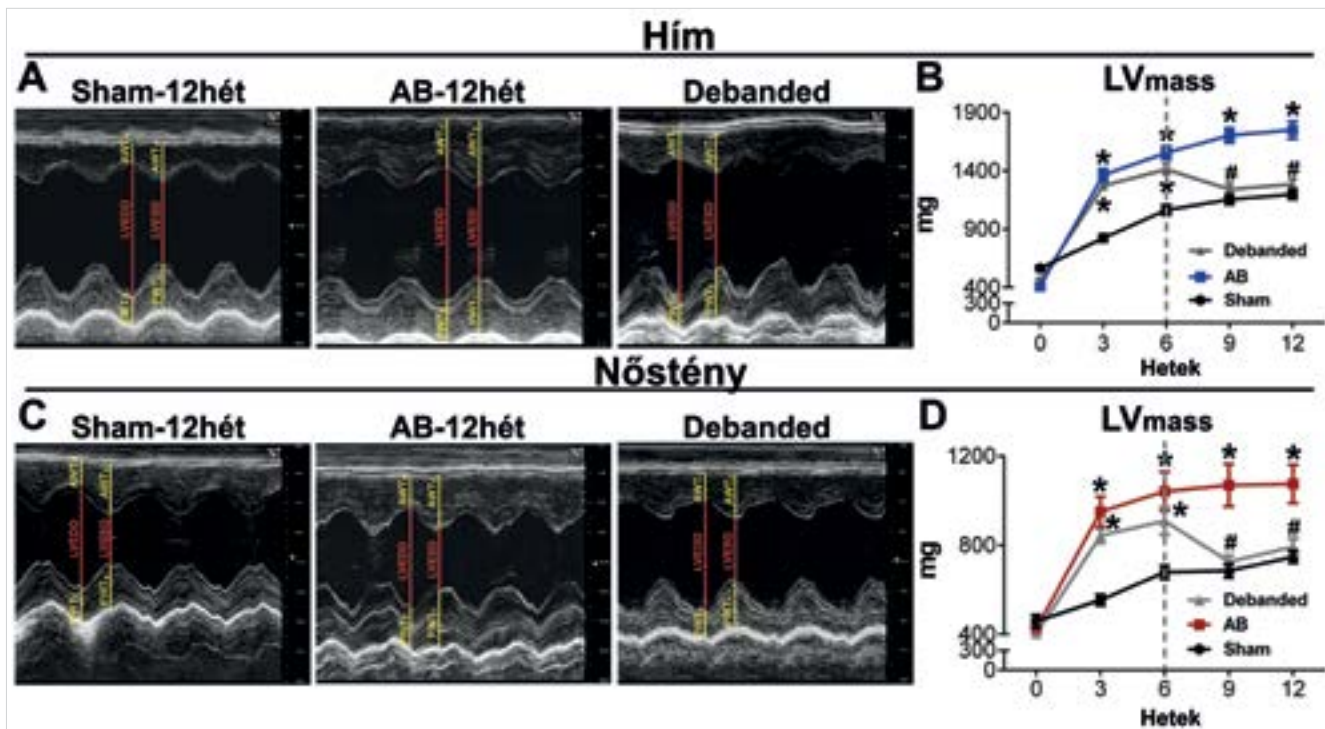
ható az etikai okokból adódó hiányzó kontrollcsoport miatt. Megoldást jelenthetnek a kísérletes kutatások, ugyanis a fent említett befolyásoló faktorok kizárásával, standard körülmények között, homogén csoportokon figyelhető meg a nemek közti esetleges eltérés.

Munkacsoportunk korábban már sikeresen modellezte a kisállatokon végzett hasi aorta beszűkítésével (AB), majd a szűkület felengedésével (debanding), a fokozott nyomásterhelést és a nyomásterhelés megszüntetésé-

vel járó reverz remodelációt (16, 18, 33). Így a jelenlegi tanulmányunkban a reverz és antiremodelláció lehetséges nemi különbségeinek vizsgálatát tűztük ki célul ezen modell felhasználásával, az említett korlátozó faktorok kizárásával.

Miokardiális hipertrófia

A nyomásterhelés megszüntetése a BKH jelentős, közel teljes regresszióját eredményezte mindkét nem



1. ÁBRA. A nem hatása a bal kamrai szívizomtömeg változására a fokozott nyomásterhelés és a nyomásterhelés megszüntetésének következtében. **A** és **C**: A hím és a nőstény áloperált (Sham), aortaszűkített (AB), valamint a debanded csoportok 12. heti reprezentatív M-módú echokardiográfiás felvételei láthatók (a papilláris izom középső harmadának magasságában). **B** és **D**: A BK-i szívizomtömeg (LV_{mass}) mindkét nem esetén emelkedett az AB és debanded csoportokban. A szűkület 6. hetén történő eltávolítása azonban az LV_{mass} csökkenéséhez vezetett a hímeekben és a nőstényekben egyaránt. * $p < 0,05$ vs. sham; # $p < 0,05$ vs. AB.

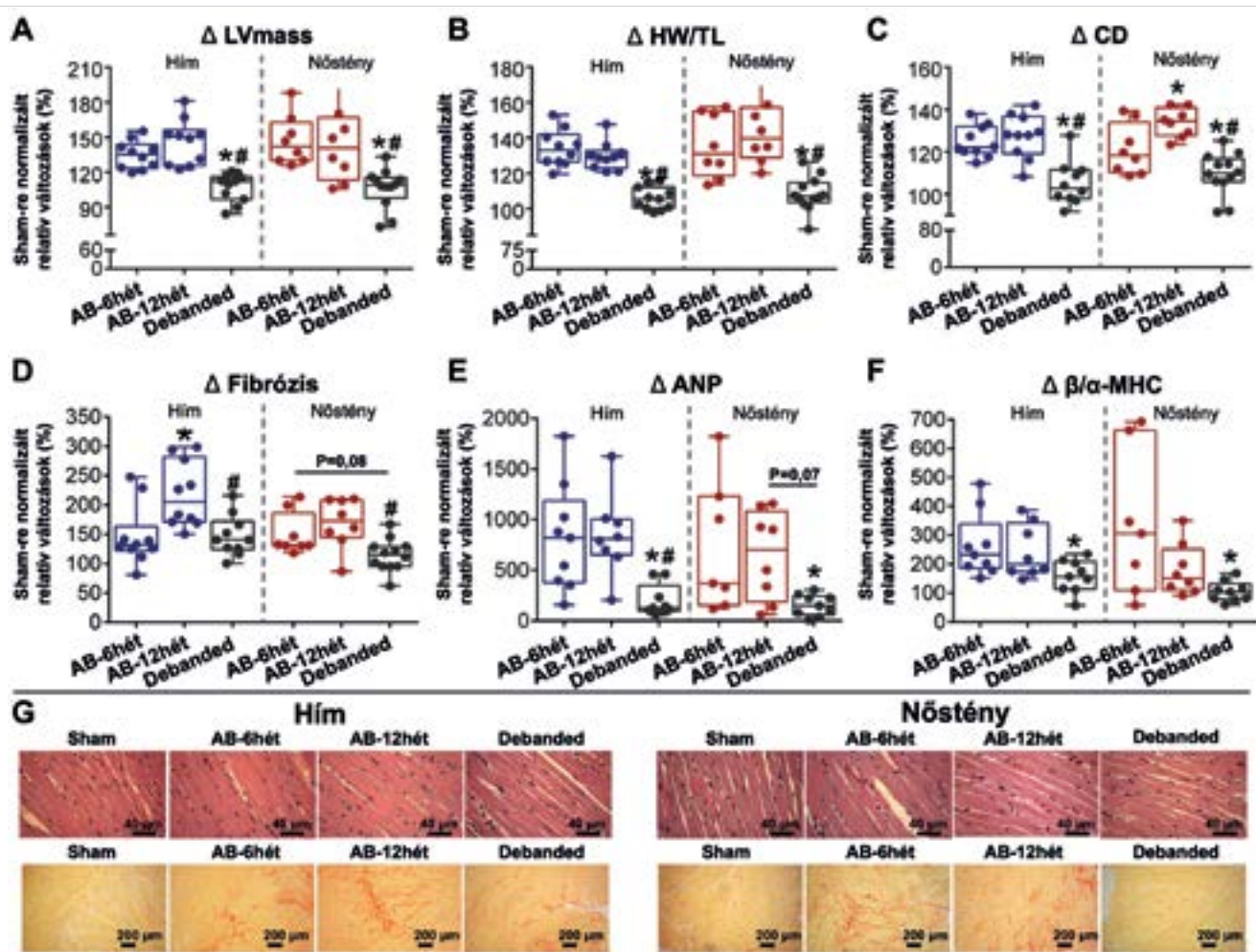
esetén. A BK-i izomtömeg jellemzően a posztoperatív első három hét során csökkent, amely megegyezett a korábbi tapasztalatainkkal (1. táblázat) (18, 34). A BKH gyors ütemű visszafejlődését klinikai vizsgálatok is igazolták, ugyanis már a korai posztoperatív napokban jelentős javulást mutattak ki (13, 35). Az aortabillentyű sebészi cseréje után már a harmadik napon a nőknél kisebb LVEDD-t és BK-i tömeget figyeltek meg echokardiográfiás mérések alapján, azonban a falvastagságot tekintve nem észleltek változást (29). Feltehetően ez a BK-i izomtömegben talált csökkenés csupán az üregátmérők akut redukciójának a következménye. Viszont egy másik vizsgálatban a BKH mindkét nem esetén hasonló mértékű regressziót mutatott a TAVI-t követő 3. hónapban (13). Fél évvel egy SAVR/TAVI után végzett vizsgálat a férfi betegeknél nagyobb mértékűnek találta a BKH visszaalakulását, azonban a kiindulási izomtömeg százalékos csökkenéseként kifejezve ez a nemi különbség már nem állt fenn (11). Jelen vizsgálatunk során nem figyeltünk meg a nemek között jelentős különbséget a szívizom-hipertrófia visszaalakulásában, amely megfigyelésünket az egybehangzó echokardiográfiás, postmortem és szövettani vizsgálatokra alapoztuk (2A–C ábra; 4. és 5. táblázat). Azonban a debanded és az AB-12hét-csoportok összehasonlításából kiderült, hogy a nőstényeknél nagyobb mértékű antiremodellációs hatás alakult ki a HW/TL arány tekin-

tetében (5. táblázat). Utóbbi háttérben az AB-modell esetén megfigyelt jelenség állhat, miszerint a nyomástülszűrés előrehaladott szakaszában a hímekekhez képest nagyobb hipertrófiás válasz alakul ki a nőstényeknél (19).

Fötális génprogram

A patológiás szívizom-hipertrófia a fötális génprogram reaktivációjával jár. Kísérletünkben a fokozott nyomásterhelés hatására az irodalommal egybehangzóan, emelkedett az ANP expressziója és a β/α -MHC génexpressziós arány, amelyek a debanding után mérséklődtek (2. ábra) (34, 36). Korábbi tanulmányok a nőstényeknél magasabb α -MHC- és β -MHC-szintet találtak a hímekekhez képest, azonban a nemek közötti különbség az α -MHC esetében jóval nagyobb volt, ami a β/α -MHC arány relatív csökkenéséhez vezetett (37). Kísérletünkben a kontroll- és az AB-nőstényeknél szintén csökkent β/α -MHC génexpressziós arányt tapasztaltunk (1. és 2. táblázat). Az ANP génexpressziós szintjét tekintve azonban sem a jelenlegi, sem más korábbi vizsgálatok nem találtak nemek közötti különbségeket (1. és 2. táblázat) (38).

A debanded hím és nőstény patkányokat összehasonlítva is megfigyeltünk nemi eltérést a β/α -MHC génexpressziós arányban (3. táblázat). Továbbá, a reverz remodeláció során szintén a nőstényeknél csökkent



2. ÁBRA. Hipertrófiás, fibrotikus és génexpressziós változások a fokozott nyomásterhelés megszüntetése által indukált reverz és antiremodelláció részeként. **A–C** és **E**: A BK-i szívizomtömeg (LV_{mass}), a szív-tömeg-tibiahossz arány (HW/TL), a cardiomyocytátmérő (CD) és a pitvari natriuretikus peptid (ANP) génexpressziós szintje csökkent a hím és nőstény állatokban az aortaszűkület eltávolítása (debanded) után a 6 és 12 hetes aortaszűkített csoportokhoz képest (AB-6hét, AB-12hét). **D**: Az interstitialis fibrózis szintén csökkenést mutatott mindkét nem debanded csoportjában az AB-12hét-csoportokhoz képest, azonban a 6 hetes aortaszűkített állatokhoz képest csak a nőstényeknél volt jelentős a csökkenés. **F**: A béta/alfa-miozin nehézlánc génexpressziós aránya (β/α -MHC) szintén csökkent mindkét nemben az AB-6hét-állatokhoz képest. **G**: Reprezentatív hematoxilin-eozinnal festett szövettani metszetek a cardiomyocytákat (nagyítás: 200-szoros; skála: 40 μ m), míg a picrosirius-vörössel festett (nagyítás: 50-szeres; skála: 200 μ m) metszetek a fibrotikus átalakulást mutatják. Az AB-csoportokban jelentős hipertrófia és fokozott fibrózis, míg a debanded csoportokban ezen folyamatok visszaalakulása figyelhető meg mindkét nem esetén. * $p < 0,05$.

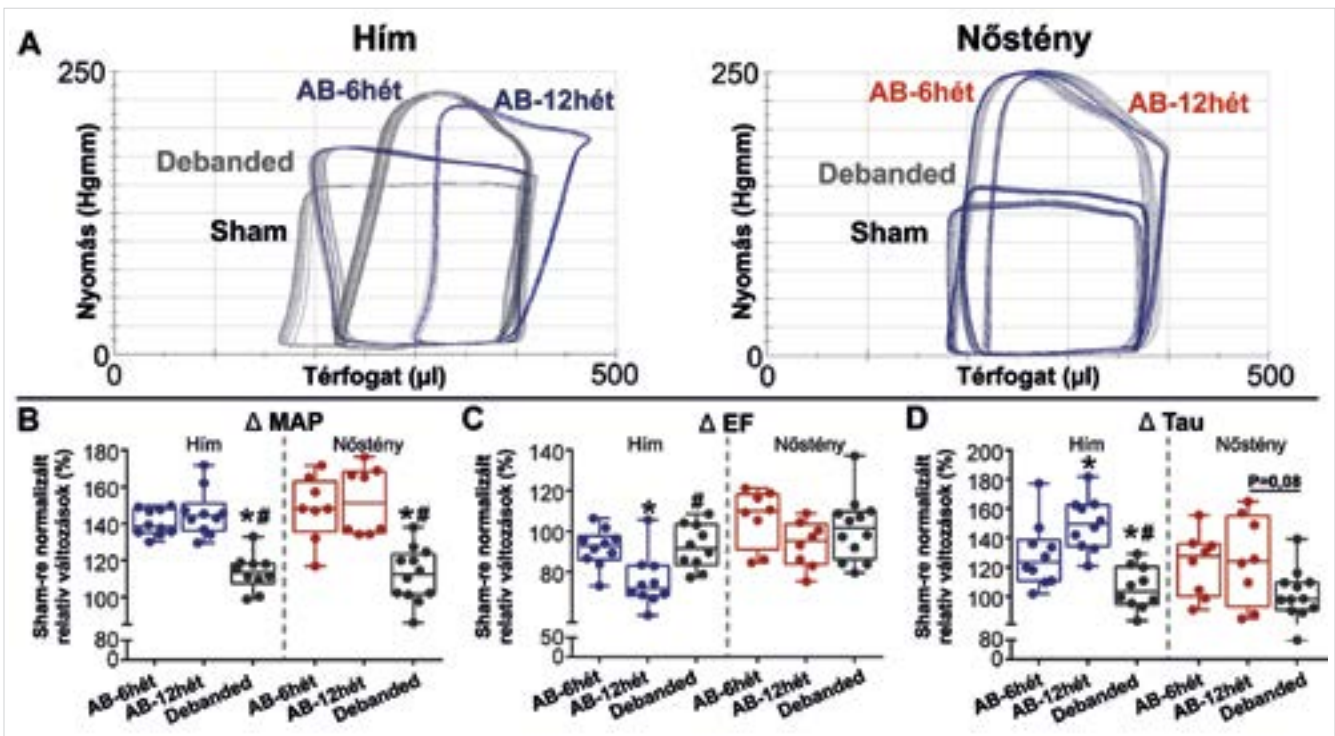
markánsabban a β/α -MHC génexpressziós arány. Azonban az antiremodelláció nem mutatott a génexpresszióban nemekre specifikus eltérést (5. táblázat).

Miokardiális fibrózis

Dobson és munkatársai SAVR/TAVI beavatkozáson átesett nők esetében a gadolínium kontrasztanyag halmozásának késői csökkenéséről számoltak be, míg a férfiak esetén nem, ami arra utal, hogy az elhalt szívizomsejteket helyettesítő, úgynevezett replacement fibrózis csak a nőknél csökkent (11). Tanulmányunk az első, amely leírta, hogy a nyomásterhelés megszüntetése a nőstényekben az interstitialis fibrózis nagyobb mértékű regressziójához vezetett a hímekekhez képest

(5. táblázat). Azonban az antiremodellációt vizsgálva nem adódott különbség a nemek között (5. táblázat). Utóbbit magyarázhatja az, hogy a 6. héttől a 12. hétig csak a hím AB-állatoknál progrediált a fibrózis mértéke (2. táblázat).

Habár a korábban kialakult fibrózis nőknél plasztikusabbnak bizonyult, szűkület eltávolítása mindkét nem esetében hasonló mértékben védett a további fibrotikus átalakulással szemben. Jelenleg még ismeretlenek azok a molekuláris mechanizmusok, amelyek a nemekre specifikus különbségeket okozzák a fibrotikus remodellációban és reverz remodellációban. Nemrég találtak nemi különbséget a miokardiális fibroblastok aktiválásában, illetve azok myofibroblastokká való



3. ÁBRA. A nem hatása a nyugalmi hemodinamikai paraméterekre. **A:** Reprezentatív nyomás-térfogot hurkok. **B:** Az aortaszűkület eltávolítása az artériás középnyomás (MAP) normalizálódását eredményezte a debanded hímeiben és nőstényekben egyaránt az AB-6hét- és AB-12hét-csoportokhoz képest. **C:** Az ejekciós frakció (EF) romlást mutatott az AB-12hét hím állatainál a 6 hetes csoporthoz képest. A nyomásterhelés megszüntetése az EF javulásához vezetett a debanded hímeiben. **D:** A diasztolés funkciót jellemző aktív relaxációs időkonstans (Tau) megnyúlt az AB-12hét-hímeiben az AB-6hét-csoporthoz képest. A nyomásterhelés megszüntetésének hatására normalizálódott a Tau a hím debanded csoportban. A nőstény debanded állatoknál erős csökkenő tendenciát tapasztaltunk az AB-12hét-nőstényekhez képest.
 *p<0,05.

átalakulásában, krónikus béta-adrenerg-aktiváció hatására (39). Azonban további kísérletek szükségesek annak vizsgálatára, hogy valóban fellelhető-e nemi különbségek a fibroblastok aktivitásában a fokozott nyomásterhelés és a terhelés megszüntetése során.

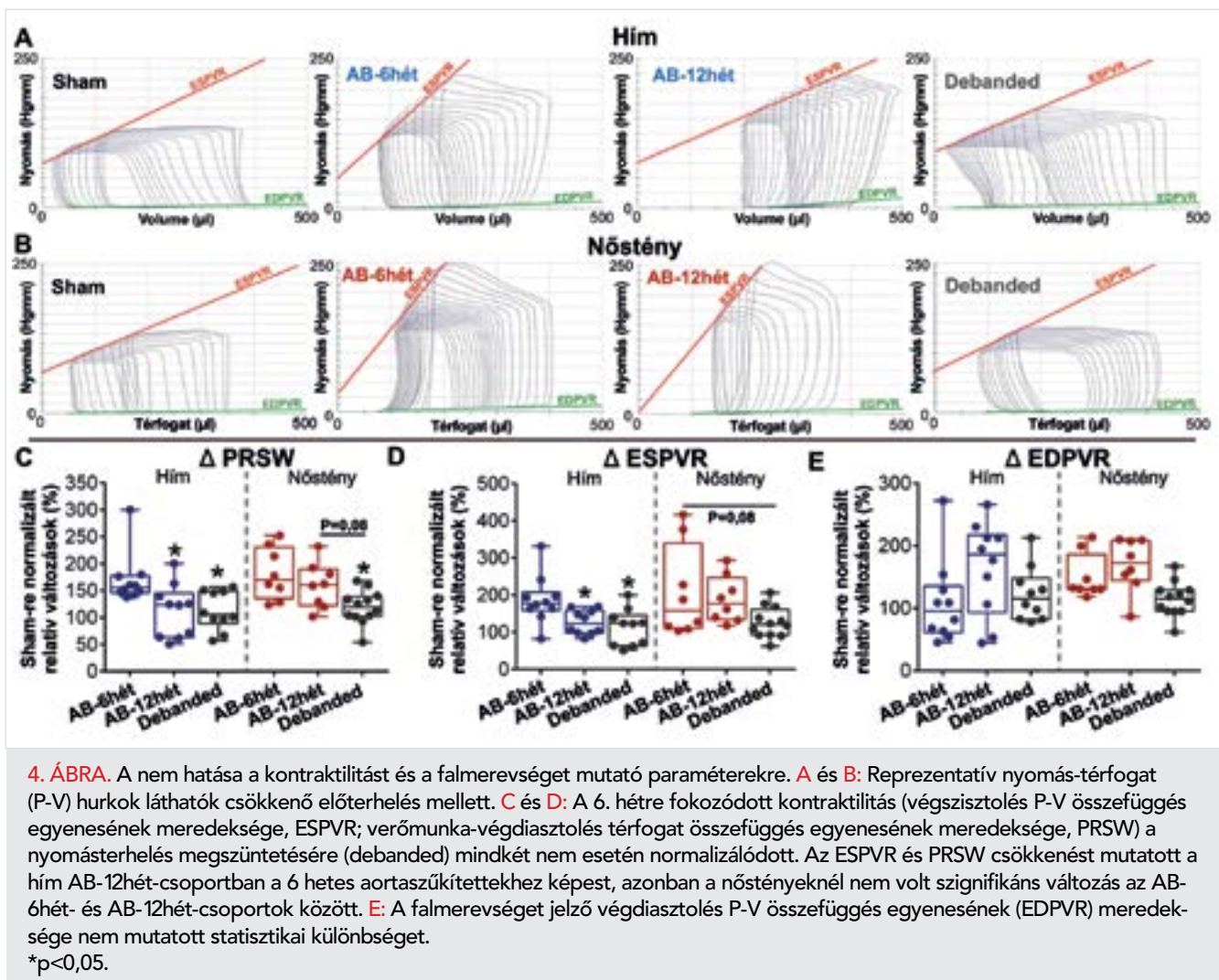
Bal kamrai funkció

Korábbi klinikai adatokkal összhangban jellegzetes, nemekre specifikus különbségeket találtunk az áloperált kontrollállatokban, úgy mint az emelkedett LVESP, az E_a és az ESPVR a nőstényeknél (1. táblázat) (40). Az AB hatására a BK-i funkció korábbi kísérleteinkhez hasonlóan alakult az időbeli lefutását és a nemi különbségeket tekintve (19). A nyomásterhelés korai stádiumában (6. hét) fokozott kontraktilitás, megtartott VAC és megnyúlt aktív relaxáció alakult ki a hím és a nőstény állatokban egyaránt. A folyamat előrehaladtával (12. hét) csak a hím AB-csoportban romlott jelentősen a kontraktilitás, amely a VAC károsodásához, így csökkent szisztolés funkcióhoz vezetett (2. táblázat). Ezenkívül a diasztolés diszfunkció további romlást mutatott a hím csoportban. A reverz remodeláció során nem volt különbség a szisztolés és a diasztolés funkció javulásának mértékében a hím és a nőstény debanded csoportok között (3–5. táblázat).

Az eltérő nemi csoportokban az EF hasonló mértékű emelkedése összhangban áll a klinikai vizsgálatok tapasztalataival (11, 29). Kísérletünkben a hímek esetén nagyobbak bizonyult az antiremodellációs hatás a nőstényekhez képest funkcionális szinten. Azonban ez feltehetőleg nem a nyomásterhelésre adott kedvezőbb terápiás válaszból ered, hanem a hím AB-állatokban megfigyelhető progresszívebb kórlefordulástól (5. táblázat).

Proteomika

A kísérleti csoportok proteomszintű szeparációjához a leginkább hozzájáruló fehérjék között szerepelnek olyanok, amelyek közvetlenül kapcsolatosak a miokardiális hipertrófiával, mint az LMCD1 (41), az AHSA1 (42), az FLNC (43), a CSRP3 (44), a GPX4 (45), a DUSP3 (46) és a DYSF (47). A DDX3X (48) és az EIF2S3 (49) fehérjék nemikromoszóma-függő különbségeket mutatnak, míg az ENTPD2 (50), a SUCLG2 (51) és a DPGD1L (52) az anyagcserében játszanak kulcsszerepet. Az FLCN gén mutációi számos cardiomyopathiában megfigyelhetőek. A DYSF és a CSRP3 fehérjék fontos szerepet töltenek be a mechanikai stresszre adott válaszban (53). Az LMCD1-ről ismert, hogy a miokardiális hipertrófiát a kalcineurin útvonalon



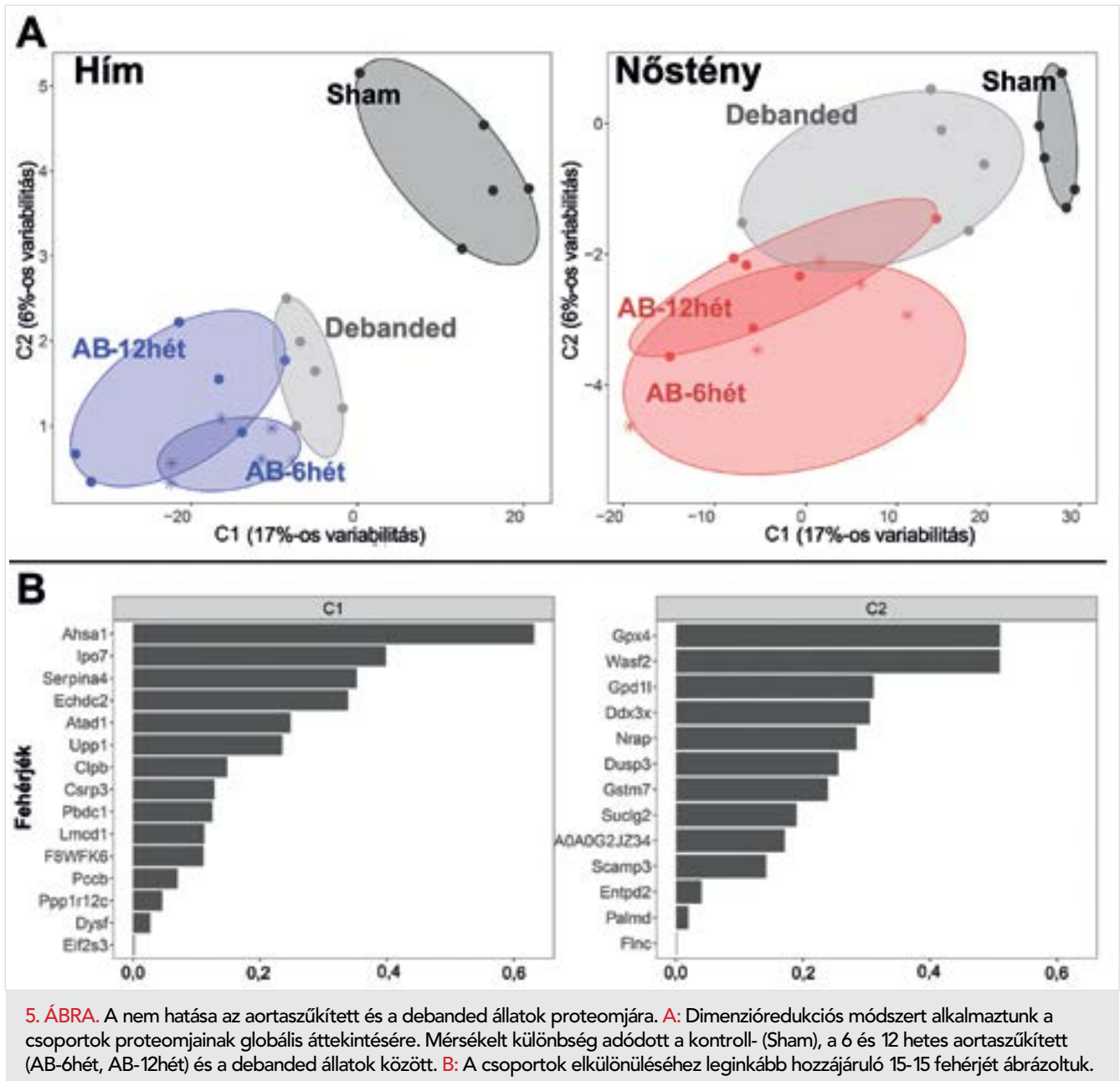
keresztül befolyásolja (41). A GXP4 fehérje az oxidatív stresszre adott válasz része (45), a DUSP3 fehérje pedig védelmet nyújt a fokozott MAPK jelátvitellel szemben (54).

A nyomásterhelés hatására a 6. és a 12. héten is hasonló mértékű változást figyeltünk meg a proteom szintjén a hím és a nőstény állatokban (6. ábra). A lipidanyagcserével kapcsolatos proteinek fokozott expressziója volt a legkorábbi, nemtől független válasz a nyomástúlterhelésre (7. ábra). Ismert, hogy a nyomásterhelés által kiváltott patológiás BKH a lipideket metabolizáló és oxidáló enzimek csökkent expressziójával jár, amely a myocardium energetikai károsodásához vezet (55). Továbbá korábban azt is kimutatták, hogy BKH-ban a csökkent lipidfelhasználás fokozott glikolízissel jár (56). Jelen tanulmányunkban azonban az AB 6. és 12. hetén inkább a lipidanyagcserét érintő változások domináltak, és nem a glükóz lebontása.

Az AB 12. hetén azonban már nemekre specifikus változásokat is észleltünk (7C ábra). A hím állatokat a cytoskeletonhoz kapcsolódó fehérjék növekedett expressziója, valamint a peptidok bioszintézisének csökkenése, míg a nőstény állatokat a gyulladással folya-

matok fokozódása jellemezte. Korai posztisztkémiai remodellációt vizsgálva kutatócsoportunk korábban nagyobb mértékű gyulladást talált nőstény állatokban (57). A gyulladás kulcsfontosságú lehet a nemtől függő extracelluláris és funkcionális remodellációban, mivel a gyulladás gátlása rontja a hemodinamikai javulás esélyét hosszú távon (58). A túlzottan sűrű mikrotubulus-hálózat a csökkent kontraktilitással függ össze, tehát a hím AB-állatokban a cytoskeletonhoz kapcsolódó fehérjék fokozott expressziója a szisztolés funkció romlását jelezhetik, már szubcelluláris szinten (59).

A nyomásterhelés megszüntetése által kiváltott reverz remodelláció a BK-i proteom jelentős változásával járt mindkét nem esetén. A nőstény csoportban nagyobb mértékben javult a megváltozott fehérjeexpressziós mintázat (6A és 6B ábra). A lipidanyagcserét érintő fehérjék expressziója szintén a nőstény állatokban állt nagyobb mértékben helyre (7A és 7B ábra). Eredményeinkkel összhangban egy korábbi tanulmány kimutatta, hogy az előrehaladott nyomástúlterheléssel járó metabolikus remodelláció nemfüggő (60). További kutatásokra van szükség annak vizsgálatára, hogy a BK-i



5. ÁBRA. A nem hatása az aortaszűkített és a debanded állatok proteomjára. **A:** Dimenzioredukciós módszert alkalmaztunk a csoportok proteomjainak globális áttekintésére. Méréselt különbség adódott a kontroll- (Sham), a 6 és 12 hetes aortaszűkített (AB-6hét, AB-12hét) és a debanded állatok között. **B:** A csoportok elkülönüléséhez leginkább hozzájáruló 15-15 fehérjét ábrázoltuk.

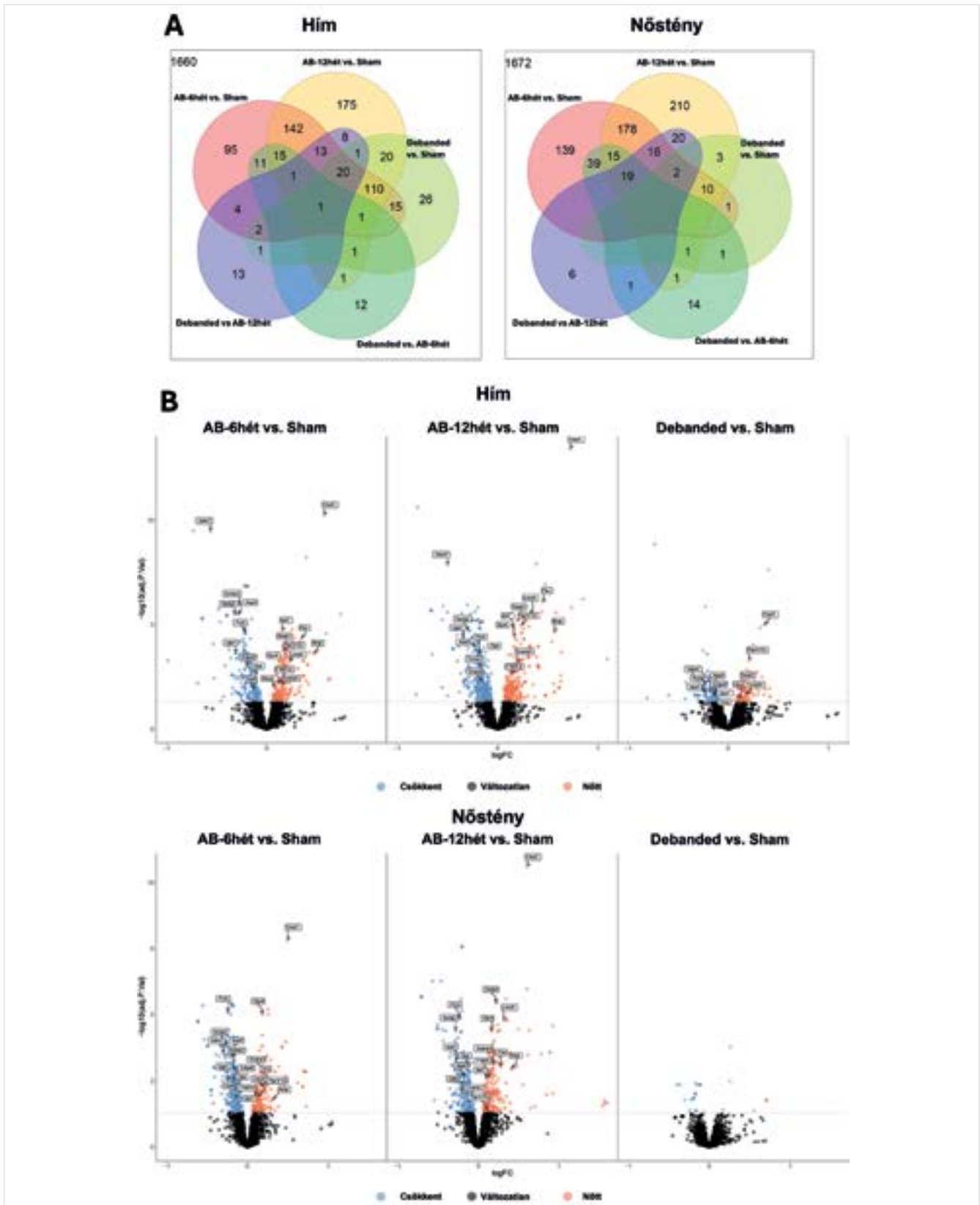
proteomika szintjén megfigyelt nagyobb reverz remodeláció klinikai jelentőséggel bír-e.

Következtetés

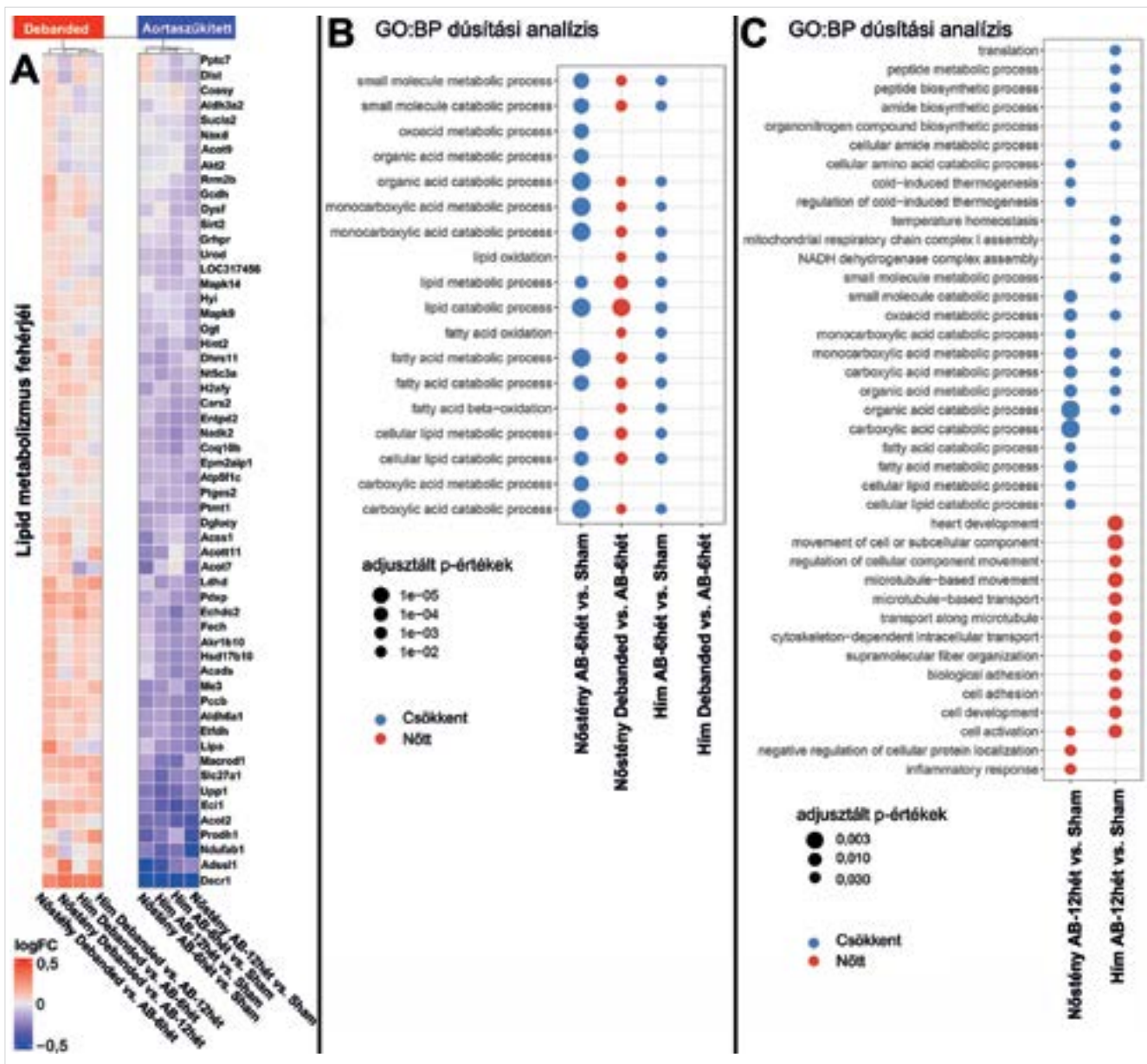
Jelen tanulmányunkban elsőként vizsgáltuk a fokozott nyomásterhelés megszüntetésével járó reverz és anti-remodellációs folyamatok nemek közötti különbségeit. A nőstény patkányoknál az interstitialis fibrózis, a főtális génexpresszió és a BK-i proteom nagyobb regressziót mutattak a hímekekhez képest. Ugyanakkor a hímekeknek a nyomásterhelés megszüntetése funkcionális szinten nagyobb anti-remodellációs hatást váltott ki, amely az aortaszűkített hím állatok szisztolés és diasztolés funkcióinak progresszívebb romlásával magyarázható.

Limitációk

Korábbi tanulmányokhoz hasonlóan a nyomásterhelés kiváltásához mindkét nem esetén azonos méretű tüt alkalmaztunk (38, 61, 62). A hímekeknek tapasztalt nagyobb súlynövekedés felveti annak a lehetőségét, hogy azonos tüméret mellett a hímekeknek súlyosabb aortaszűkület is kialakulhatott volna. Azonban nem találtunk különbséget a nemek között a hemodinamikai paraméterek (Δ SBP, Δ DBP, Δ MAP, Δ E_a) és a falfeszülés (Δ ANP) változásának mértékében, azaz feltehetőleg egyenértékű nyomásterhelés jött létre a 6. hétre. Továbbá az aorta veseartériák feletti beszűkítése csökkent vesekeringést eredményezhet, ami fokozhatja a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer (RAAS) aktivitását (63). Mivel a nemi hormonok ismertén be-



6. ÁBRA. A differenciálexpresszió elemzése Venn-diagrammon és volcano plot ábrán. **A:** A Venn-diagrammon az összes kísérleti csoport összehasonlítva látható a megváltozott relatív expressziójú fehérjék számával. **B:** A volcano plot ábra a differenciálexpressziós elemzés eredményét mutatja be. A hím és a nőstény aortaszűkített csoportok (AB-6hét, AB-12hét) hasonló mértékű fehérjeexpressziós változást mutattak a megfelelő kontroll- (Sham) csoportokhoz képest. A nyomásterhelés megszűntetése után a nőstény debanded állatoknál nem, de a hímeknél jelentős különbség mutatkozott a fehérjeexpresszióban, a nem szerinti kontrollcsoporthoz képest.



7. ÁBRA. Génontológiával meghatározott biológiai folyamatok. **A:** A hőtérképábrán a génontológiával (GO:BP) meghatározott, a lipidanycserével kapcsolatos fehérjék láthatók. **B:** A dúsított GO:BP kategóriák alapján a miokardiális reverz remodelláció nemi függőséget mutatott. A lipidanycserét érintő fehérjék fokozott expressziója csak a nőstény debanded állatokban volt megfigyelhető. **C:** Az előrehaladott nyomástűlterhelés (AB-12hét) nemre specifikus különbségeket mutatott. A hím AB-12hét-csoportban növekedett a cytoskeletonhoz kapcsolódó fehérjék expressziója, és csökkent a peptidek bioszintézise. A nőstény AB-12hét csoportban a gyulladási folyamatok fokozódása volt jelentős.

folyásolják a RAAS szabályozását, ez a nemek közötti különbség is hozzájárulhatott a kísérletben megfigyelt eltérő remodellációhoz és reverz remodellációhoz. Meg kell említeni, hogy a debanded csoportnak megfelelő kontrollcsoport állatai csak egy, míg a debanded állatok két beavatkozáson estek át. A reverz remodelláció vizsgálatára 6 hetes utánkövetési időszakot választottunk. Ugyanakkor hosszabb követési időszakokra is szükség lenne annak érdekében, hogy a hím és nőstény debanded patkányok mortalitásában esetlegesen fennálló különbségeket is tanulmányozhassuk.

Figyelembe véve, hogy a nemi különbségek idővel jelentősebbek, további kísérletekre van szükség annak vizsgálatára, hogy a reverz remodelláció hasonló mértékben megy-e végbe, ha a nyomáscsökkentést a BKH későbbi szakaszaiban (pl. 12 hetes PO után) végezzük el. Végül érdemes megemlíteni, hogy jelen vizsgálatunkat fiatal, hormonálisan aktív felnőtt nőstény patkányokon végeztük, míg az SAVR/TAVR eljárásokon áteső nők jellemzően posztmenopauzális korúak. Ezért további kutatások szükségesek gonadectomi-

án átesett állatokkal, hogy feltárjuk a nemi hormonok esetleges kóroki szerepét a reverz remodellációban.

Támogatás

Jelen munkánkat a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal – NKFIH (NVKP-16-1-2016-0017, „Nemzeti Szívprogram”) és NKFIH K134939 (R.T.); az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-21-4-II-SE-5 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programja (R.M.) és a Ruprecht–Karl Egyetem Orvostudományi Kara (S.K.-I.); támogatta. A TKP2021-EGA-23 számú projekt az Innovációs és Technológiai Minisztérium Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában valósult meg. Az RRF-2.3.1-21-2022-00003 számú projekt az Európai Unió támogatásával valósult meg.

Irodalom

1. Aurigemma GP, Silver KH, McLaughlin M, Mauser J, Gaasch WH. Impact of chamber geometry and gender on left ventricular systolic function in patients >60 years of age with aortic stenosis. *The American Journal of Cardiology* 1994; 74(8): 794–8. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(94\)90437-5](https://doi.org/10.1016/0002-9149(94)90437-5)
2. Carroll JD, Carroll EP, Feldman T, Ward DM, Lang RM, McGaughey D, et al. Sex-associated differences in left ventricular function in aortic stenosis of the elderly. *Circulation* 1992; 86(4): 1099–107. <https://doi.org/10.1161/01.cir.86.4.1099>
3. Villari B, Campbell SE, Schneider J, Vassalli G, Chiariello M, Hess OM. Sex-dependent differences in left ventricular function and structure in chronic pressure overload. *European Heart Journal* 1995; 16(10): 1410–9. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.eurheartj.a060749>
4. Douglas PS, Otto CM, Mickel MC, Labovitz A, Reid CL, Davis KB. Gender differences in left ventricle geometry and function in patients undergoing balloon dilatation of the aortic valve for isolated aortic stenosis. *NHLBI Balloon Valvuloplasty Registry. Heart* 1995; 73(6): 548–54. <https://doi.org/10.1136/hrt.73.6.548>
5. Kararigas G, Dworatzek E, Petrov G, Summer H, Schulze TM, Baczko I, et al. Sex-dependent regulation of fibrosis and inflammation in human left ventricular remodeling under pressure overload: Sex-specific LV gene regulation in pressure overload. *European Journal of Heart Failure* 2014; 16(11): 1160–7. <https://doi.org/10.1002/ejhf.171>
6. Elhmidi Y, Piazza N, Mazzitelli D, Wottke M, Lange R, Bleiziffer S. Sex-Related Differences in 2197 Patients Undergoing Isolated Surgical Aortic Valve Replacement. *Journal of Cardiac Surgery* 2014; 29(6): 772–8. <https://doi.org/10.1111/jocs.12442>
7. Caponcello MG, Banderas LM, Ferrero C, Bramlage C, Thoenes M, Bramlage P. Gender differences in aortic valve replacement: is surgical aortic valve replacement riskier and transcatheter aortic valve replacement safer in women than in men? *J Thorac Dis* 2020; 12(7): 3737–46. <https://doi.org/10.21037/jtd-20-700>
8. O'Connor SA, Morice M-C, Gilard M, Leon MB, Webb JG, Dvir D, et al. Revisiting Sex Equality With Transcatheter Aortic Valve Replacement Outcomes. *Journal of the American College of Cardiology* 2015; 66(3): 221–8. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.05.024>
9. Sannino A, Szerlip M, Harrington K, Schiattarella GG, Grayburn PA. Comparison of Baseline Characteristics and Outcomes in Men Versus Women With Aortic Stenosis Undergoing Transcatheter Aortic Valve Implantation. *The American Journal of Cardiology* 2018; 121(7): 844–9. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2017.12.020>
10. Chen SC, Leu HB, Chang HH, Chen IM, Chen PL, Lin SM, et al. Women had favourable reverse left ventricle remodelling after TAVR. *Eur J Clin Invest* 2020; 50(1): e13183. <https://doi.org/10.1111/eci.13183>
11. Dobson LE, Fairbairn TA, Musa TA, Uddin A, Mundie CA, Swoboda PP, et al. Sex-related differences in left ventricular remodeling in severe

aortic stenosis and reverse remodeling after aortic valve replacement: A cardiovascular magnetic resonance study. *American Heart Journal* 2016; 175: 101–11. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2016.02.010>

12. Bochenek T, Kusz B, Mizia M, Lelek M, Turski M, Wita K, et al. Echocardiographic evaluation of myocardial strain in patients after transcatheter aortic valve implantation. *Postepy Kardiol Interwencyjnej* 2015; 2: 95–9. <https://doi.org/10.5114/pwki.2015.52281>
13. Stangl V, Baldenhofer G, Knebel F, Zhang K, Sanad W, Spethmann S, et al. Impact of Gender on Three-Month Outcome and Left Ventricular Remodeling After Transfemoral Transcatheter Aortic Valve Implantation. *The American Journal of Cardiology* 2012; 110(6): 884–90. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2012.04.063>
14. Vicente JA, Blasco IL, Perez PP, Sanchez BS, Nadal MR, Arroyo JR, et al. Impact of moderate coronary atherosclerosis on long-term left ventricular remodeling after aortic valve replacement. *Cardiol J* 2011; 18(3): 277–81.
15. Fuchs C, Mascherbauer J, Rosenhek R, Pernicka E, Klaar U, Scholten C, et al. Gender differences in clinical presentation and surgical outcome of aortic stenosis. *Heart* 2010; 96(7): 539–45. <https://doi.org/10.1136/hrt.2009.186650>
16. Gao X-M, Kiriazis H, Moore X-L, Feng X-H, Sheppard K, Dart A, et al. Regression of pressure overload-induced left ventricular hypertrophy in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2005; 288(6): H2702–H7. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00836.2004>
17. Ruppert M, Korkmaz-Icoz S, Loganathan S, Jiang W, Olah A, Sayour AA, et al. Incomplete structural reverse remodeling from late-stage left ventricular hypertrophy impedes the recovery of diastolic but not systolic dysfunction in rats. *J Hypertens* 2019; 37(6): 1200–12. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000002042>
18. Ruppert M, Korkmaz-Icoz S, Li S, Nemeth BT, Hegedus P, Brlecic P, et al. Myocardial reverse remodeling after pressure unloading is associated with maintained cardiac mechanoenergetics in a rat model of left ventricular hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2016; 311(3): H592–603. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00085.2016>
19. Ruppert M, Korkmaz-Icoz S, Loganathan S, Jiang W, Lehmann L, Olah A, et al. Pressure-volume analysis reveals characteristic sex-related differences in cardiac function in a rat model of aortic banding-induced myocardial hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2018; 315(3): H502–H11. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00202.2018>
20. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, et al. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol* 1986; 57(6): 450–8. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(86\)90771-x](https://doi.org/10.1016/0002-9149(86)90771-x)
21. Matyas C, Kovacs A, Nemeth BT, Olah A, Braun S, Tokodi M, et al. Comparison of speckle-tracking echocardiography with invasive hemodynamics for the detection of characteristic cardiac dysfunction in type-1 and type-2 diabetic rat models. *Cardiovasc Diabetol* 2018; 17(1): 13. <https://doi.org/10.1186/s12933-017-0645-0>
22. Hughes CS, Moggridge S, Müller T, Sorensen PH, Morin GB, Krijgsveld J. Single-pot, solid-phase-enhanced sample preparation for proteomics experiments. *Nature Protocols* 2019; 14(1): 68–85. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0082-x>
23. Baumert HM, Metzger E, Fahrner M, George J, Thomas RK, Schilling O, et al. Depletion of histone methyltransferase KMT9 inhibits lung cancer cell proliferation by inducing non-apoptotic cell death. *Cancer Cell Int* 2020; 20(1): 52. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-1141-2>
24. Cox J, Mann M. MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. *Nat Biotechnol* 2008; 26(12): 1367–72. <https://doi.org/10.1038/nbt.1511>
25. Huang T, Choi M, Tzouros M, Golling S, Pandya NJ, Banfai B, et al. MSstatsTMT: Statistical Detection of Differentially Abundant Proteins in Experiments with Isobaric Labeling and Multiple Mixtures. *Molecular & Cellular Proteomics* 2020; 19(10): 1706–23. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA120.002105>
26. Rohart F, Gautier B, Singh A, Lê Cao K-A. mixOmics: An R package for 'omics feature selection and multiple data integration. *PLoS Comput Biol* 2017; 13(11): e1005752. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005752>
27. Phipson B, Lee S, Majewski JJ, Alexander WS, Smyth GK. Robust hyperparameter estimation protects against hypervariable genes and improves power to detect differential expression. *Ann Appl Stat* 2016; 10(2): 946–963. <https://doi.org/10.1214/16-AOAS920>

28. Yu G, Wang L-G, Han Y, He Q-Y. clusterProfiler: an R Package for Comparing Biological Themes Among Gene Clusters. *OMICS: A Journal of Integrative Biology* 2012; 16(5): 284–7. <https://doi.org/10.1089/omi.2011.0118>
29. Petrov G, Regitz-Zagrosek V, Lehmkühl E, Krabatsch T, Dunkel A, Dandel M, et al. Regression of myocardial hypertrophy after aortic valve replacement: faster in women? *Circulation* 2010; 122(11 Suppl): S23–8. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.927764>
30. Petrov G, Dworatzek E, Schulze TM, Dandel M, Kararigas G, Mahmoodzadeh S, et al. Maladaptive Remodeling Is Associated With Impaired Survival in Women But Not in Men After Aortic Valve Replacement. *JACC: Cardiovascular Imaging* 2014; 7(11): 1073–80. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2014.06.017>
31. Yousif N, Obeid S, Binder R, Denegri A, Shahin M, Templin C, et al. Impact of gender on outcomes after transcatheter aortic valve implantation. *J Geriatr Cardiol* 2018; 15(6): 394–400. <https://doi.org/10.11909/j.issn.1671-5411.2018.06.0>
32. Forrest JK, Adams DH, Popma JJ, Reardon MJ, Deeb GM, Yakubov SJ, et al. Transcatheter Aortic Valve Replacement in Women Versus Men (from the US CoreValve Trials). *The American Journal of Cardiology* 2016; 118(3): 396–402. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2016.05.013>
33. Chen J, Chemaly ER, Liang LF, LaRocca TJ, Yaniz-Galende E, Hajjar RJ. A new model of congestive heart failure in rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2011; 301(3): H994–H1003. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00245.2011>
34. Ruppert M, Korkmaz-Icöz S, Li S, Merkely B, Karck M, Radovits T, et al. Reverse electrical remodeling following pressure unloading in a rat model of hypertension-induced left ventricular myocardial hypertrophy. *Hypertension Research* 2017; 40(7): 637–45. <https://doi.org/10.1038/hr.2017.1>
35. Christakis GT, Joyner CD, Morgan CD, Fremes SE, Buth KJ, Sever JY, et al. Left ventricular mass regression early after aortic valve replacement. *The Annals of Thoracic Surgery* 1996; 62(4): 1084–9. [https://doi.org/10.1016/0003-4975\(96\)00533-4](https://doi.org/10.1016/0003-4975(96)00533-4)
36. Andersen NM, Stansfield WE, Tang R-h, Rojas M, Patterson C, Selzman CH. Recovery from decompensated heart failure is associated with a distinct, phase-dependent gene expression profile. *Journal of Surgical Research* 2012; 178(1): 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2011.12.017>
37. Rosenkranz-Weiss P, Tomek RJ, Mathew J, Eghbali M. Gender-specific Differences in Expression mRNAs for Functional and Structural Proteins in Rat Ventricular Myocardium. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 1994; 26(2): 261–70. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1994.1029>
38. Weinberg EO, Thienelt CD, Katz SE, Bartunek J, Tajima M, Rohrbach S, et al. Gender differences in molecular remodeling in pressure overload hypertrophy. *Journal of the American College of Cardiology* 1999; 34(1): 264–73. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(99\)00165-5](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(99)00165-5)
39. Peter AK, Walker CJ, Ceccato T, Trexler CL, Ozeroff CD, Lugo KR, et al. Cardiac Fibroblasts Mediate a Sexually Dimorphic Fibrotic Response to β -Adrenergic Stimulation. *JAHA* 2021; 10(11): e018876. <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.018876>
40. Hayward C. Gender-related differences in left ventricular chamber function. *Cardiovascular Research* 2001; 49(2): 340–50. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(00\)00280-7](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(00)00280-7)
41. Frank D, Frauen R, Hanselmann C, Kuhn C, Will R, Gantenberg J, et al. Lmcd1/Dyxin, a novel Z-disc associated LIM protein, mediates cardiac hypertrophy in vitro and in vivo. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2010; 49(4): 673–82. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2010.06.009>
42. Cui H, Schlesinger J, Schoenhals S, Tönjes M, Dunkel I, Meierhofer D, et al. Phosphorylation of the chromatin remodeling factor DPF3a induces cardiac hypertrophy through releasing HEY repressors from DNA. *Nucleic Acids Res* 2016; 44(6): 2538–53. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1244>
43. Cui H, Wang J, Zhang C, Wu G, Zhu C, Tang B, et al. Mutation profile of FLNC gene and its prognostic relevance in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mol Genet Genomic Med* 2018; 6(6): 1104–13. <https://doi.org/10.1002/mgg3.488>
44. Geier C, Gehmlich K, Ehler E, Hassfeld S, Perrot A, Hayess K, et al. Beyond the sarcomere: CSRP3 mutations cause hypertrophic cardiomyopathy. *Human Molecular Genetics* 2008; 17(18): 2753–65. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn160>
45. Hoffmann FW, Hashimoto AS, Lee BC, Rose AH, Shohet RV, Hoffmann PR. Specific antioxidant selenoproteins are induced in the heart during hypertrophy. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2011; 512(1): 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2011.05.007>
46. Mutlak M, Kehat I. Dual specific phosphatases (DUSPs) in cardiac hypertrophy and failure. *Cellular Signalling* 2021; 84: 110033. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2021.110033>
47. Wenzel K, Geier C, Qadri F, Hubner N, Schulz H, Erdmann B, et al. Dysfunction of dysferlin-deficient hearts. *J Mol Med* 2007; 85(11): 1203–14. <https://doi.org/10.1007/s00109-007-0253-7>
48. Shi W, Sheng X, Dorr KM, Hutton JE, Emerson JI, Davies HA, et al. Cardiac proteomics reveals sex chromosome-dependent differences between males and females that arise prior to gonad formation. *Developmental Cell* 2021; 56(21): 3019–34. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.09.022>
49. Regitz-Zagrosek V, Kararigas G. Mechanistic Pathways of Sex Differences in Cardiovascular Disease. *Physiological Reviews* 2017; 97(1): 1–37. <https://doi.org/10.1152/physrev.00021.2015>
50. Toczek M, Zielonka D, Zukowska P, Marcinkowski JT, Slominska E, Isalan M, et al. An impaired metabolism of nucleotides underpins a novel mechanism of cardiac remodeling leading to Huntington's disease related cardiomyopathy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease* 2016; 1862(11): 2147–57. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.08.019>
51. Haas J, Frese KS, Sedaghat-Hamedani F, Kayvanpour E, Tappu R, Nietsch R, et al. Energy Metabolites as Biomarkers in Ischemic and Dilated Cardiomyopathy. *IJMS* 2021; 22(4): 1999. <https://doi.org/10.3390/ijms22041999>
52. Shen E, Diao X, Wang X, Chen R, Hu B. MicroRNAs Involved in the Mitogen-Activated Protein Kinase Cascades Pathway During Glucose-Induced Cardiomyocyte Hypertrophy. *The American Journal of Pathology* 2011; 179(2): 639–50. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.04.034>
53. Bansal D, Miyake K, Vogel SS, Groh S, Chen C-C, Williamson R, et al. Defective membrane repair in dysferlin-deficient muscular dystrophy. *Nature* 2003; 423(6936): 168–72. <https://doi.org/10.1038/nature01573>
54. Todd JL, Tanner KG, Denu JM. Extracellular Regulated Kinases (ERK) 1 and ERK2 Are Authentic Substrates for the Dual-specificity Protein-tyrosine Phosphatase VHR. *Journal of Biological Chemistry* 1999; 274(19): 13271–80. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.19.13271>
55. Gallego-Delgado J, Lazaro A, Osende JI, Barberas MG, Duran MC, Vivanco F, et al. Comparison of the Protein Profile of Established and Regressed Hypertension-Induced Left Ventricular Hypertrophy. *J Proteome Res* 2006; 5(2): 404–13. <https://doi.org/10.1021/pr0503275>
56. Tran DH, Wang ZV. Glucose Metabolism in Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. *JAHA* 2019; 8(12): e012673. <https://doi.org/10.1161/JAHA.119.012673>
57. Barta BA, Ruppert M, Fröhlich KE, Cosenza-Contreras M, Oláh A, Saylor AA, et al. Sex-related differences of early cardiac functional and proteomic alterations in a rat model of myocardial ischemia. *J Transl Med* 2021; 19(1): 507. <https://doi.org/10.1186/s12967-021-03164-y>
58. Maleki Dizaji N, Garjani A, Mousavi S, Mohammadi M, Vaez H. Time-dependent influence of infliximab on hemodynamic responses and cardiac injuries of isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *European Journal of Pharmacology* 2021; 903: 174122. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174122>
59. Cooper G. Cytoskeletal networks and the regulation of cardiac contractility: microtubules, hypertrophy, and cardiac dysfunction. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2006; 291(3): H1003–H14. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00132.2006>
60. Ritterhoff J, McMillen TS, Villet O, Young S, Kolwicz SC, Senn T, et al. Increasing fatty acid oxidation elicits a sex-dependent response in failing mouse hearts. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2021; 158: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2021.05.004>
61. Douglas PS, Katz SE, Weinberg EO, Chen MH, Bishop SP, Lorell BH. Hypertrophic remodeling: gender differences in the early response to left ventricular pressure overload. *Journal of the American College of Cardiology* 1998; 32(4): 1118–25. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(98\)00347-7](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(98)00347-7)
62. Fliegner D, Schubert C, Penkalla A, Witt H, Kararigas G, Dworatzek E, et al. Female sex and estrogen receptor- β attenuate cardiac remodeling and apoptosis in pressure overload. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2010; 298(6): R1597–R606. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00825.2009>
63. Massart P-E, Donckier J, Kyselovic J, Godfraind T, Heyndrickx GR, Wiblo M. Carvedilol and Lacidipine Prevent Cardiac Hypertrophy and Endothelin-1 Gene Overexpression After Aortic Banding. *Hypertension* 1999; 34(6): 1197–201. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.34.6.1197>