

OTKA K-105555 sz. projekt zárójelentés

témavezető: Dr. Merkely Béla, DSc, egyetemi tanár

Remodelling és reverz remodelling szívelégtelenségben – experimentális modellek és humán vizsgálatok

1. Experimentális kutatómunka

1.1. A humán szívizom remodellációjának és hipertrófiás válaszkészségének vizsgálata in vitro modellekben

Az elmúlt évek új fontos lehetőségeként merült fel a humán pluripotens őssejtekből képzett kardiovaszkuláris sejtek gyógyszervizsgálatokra és szívbetegségek in vitro modellezésére való alkalmazása. A humán szívizom remodellációjának és hipertrófiás válaszkészségének in vitro jellemzése humán pluripotens őssejtek kardiovaszkuláris származékait (2, 4, 6-11) és humán szívizomsejteket használtunk és jellemeztük a szubcelluláris mechanizmusokat. Ennek során új intracelluláris jelátviteli utakat írtunk le, amelyek befolyásolása terápiás jelentőséggel is bírhat és a létrehozott sejtek érettségét is fokozhatja (5, 14, 15). Az itt alkalmazott szívizomsejt modellek arra is lehetőséget teremtettek, hogy a genetikai hátterű szívbetegségben szenvedő betegek sejtjeiből újraprogramozott, beteg-specifikus hiPS sejteket hozzunk létre. A humán IPS sejtek kardiovaszkuláris származékain a hipertrófia, sejthalálozás és kalcium egyensúly sejt szintű mechanizmusai egyaránt jól vizsgálhatóak lehetnek ezáltal. A mindezekhez ehhez társuló új technológiák alkalmazása (1) pedig egy fontos interdiszciplináris terület megerősödését is jelenti.

A pályázathoz kapcsolódó vizsgálataink azt mutatják, hogy a humán pluripotens őssejt eredetű szívizomsejtek alkalmasak lehetnek a humán szívbetegségek (3), így a szívmegegyezés és szívszöveti átépülés modellezésére in vitro körülmények között. Ugyanakkor azt találtuk, hogy az őssejtekből képzett szívizomsejtek hipertrófiájáért felelős intracelluláris jelátviteli utak eltérnek a felnőtt kamrai szívizomsejtektől. Ez egyértelműen igazolható volt az adrenerg válaszkészség esetében: a felnőtt sejtek domináns ADRA1A receptora helyett az őssejt eredetű sejtek az ADRA1B izoformát expresszálják (12, 13). Kimutatható volt, hogy míg humán embrionális őssejtből differenciált sejtek adrenerg válaszkészsége megtartott, addig az α -adrenerg fenilefrin stimulusra a hiPSC-eredetű szívizomsejtek nem reagálnak. A béta-adrenerg receptorokra adott hipertrófiás válasz is minimális. A különbségért és az alacsony válaszkészségért egy többszintű szabályozórendszer szerepe tehető felelőssé. A két sejt típusban többek között eltérően expresszálódik és eltérő aktivitású több G protein és protein kináz is, így például az EGFRK-src-GSK3b-HDAC II-STAT3 hálózat (ahogyan ezt Proteome Profiler immun-assay alkalmazásával igazoltuk). Ennek megfelelően kombinált kináz gátlók alkalmazásával a tonikus anti- hipertrófiás hatást meg lehet szüntetni, miáltal a sejtek mérete és génexpressziós aktivitása megnövelhető (13, 15).

A munka további eleme volt, hogy a Semmelweis Egyetem Szív- és Érgyógyászati Klinika szívtranszplantációs programja során izolált és biobankban tárolt felnőtt szívizomsejteken a remodellációban résztvevő jelátviteli utakat, így többek között a Hippo jelátviteli út szerepét szintén megvizsgáljuk (16). A sejthalálozást, strukturális átépülést vizsgálva igazoltuk, hogy a YAP1/TAZ transzkripció faktor komplexum kimutatható a transzplantált mintákból nyert szívizomsejtekben, expressziós aktivitása pedig eltér az egészséges és szívelégtelen szívizomsejtekben. Jelenleg humán pluripotens őssejt-származékok és humán felnőtt szívizomsejtek egyes intracelluláris mechanizmusainak

összehasonlítását végezzük. A további vizsgálatok során így a szívizomsejtek kontraktilitását, strukturális átépülését és génextpressziós aktivitását is össze tudjuk hasonlítani YAP1/TAZ depletált és kontroll sejtekben.

1.2. Vizsgálatok a balkamra-hipertrófia és szívelégtelenség kisállat-modelljében

1.2.1. Balkamra-hipertrófia és szívelégtelenség kisállat-modelljének beállítása és validálása

Kutatásaink során beállítottuk a patológiás balkamra-hipertrófia (PH) és krónikus szívelégtelenség patkánymodelljét laboratóriumunkban. Patkányainkban az abdominális aorta standard mértékű szűkületét (aortic banding, AB) hoztuk létre műtéti úton, mely a szív bal kamrájára fokozott előterhelést okoz, s 6 hét elteltével szignifikáns balkamra-hipertrófia mutatható ki. Állataink kardiális morfológiáját a 3. és 6. héten echokardiográfia segítségével vizsgáltuk, majd invazív hemodinamikai vizsgálatot (bal kamrai nyomás-térfogat (P-V)-analízist) végeztünk. Mind a szívultrahangos mérések (elülső fal vastagsága, a balkamrai izomtömeg-index), mind a post mortem mért szívtömeg/tibia hossz adatok a 6. héten szignifikáns kardiális hipertrófiát jeleztek.

A bal kamrai P-V analízis során jelentősen emelkedett végszisztolés nyomást és változatlan verőtérfogatot észleltünk a balkamra-hipertrófiás állatokban. A terhelési viszonyoktól független, érzékeny balkamrai kontraktilitás-paraméterek (pl. a verőmunka – végdiasztolés térfogat összefüggés meredeksége, PRSW) jelentős maladaptív kontraktilitás-fokozódást mutattak, melyhez az aktív relaxáció (a bal kamra relaxációs időkonstansának (Tau) szignifikáns növekedése (romlása) társult.

A modellben elvégeztük a tervezett szövettani és molekuláris biológiai vizsgálatokat: a balkamra-hipertrófiát szövettanilag a HE-festett metszeten mérte átlagos kardiomiocita átmérő szignifikáns növekedésével, továbbá jelentős szubendokardiális fibrotikus remodeláció (kollagén area növekedése, picosirius festés) kimutatásával igazoltuk. Balkamrai szívizomszövet-mintákból izolált RNS-ből kiindulva qRT-PCR módszerrel a patológiás hipertrófia és remodeláció hátterében a főtális génprogram reaktivációját figyeltük meg: jelentős mértékű és szignifikáns ($p < 0,01$) volt a miozin nehézlánc izotípusok (α/β -MHC) relatív génextpressziójának változása, valamint a pitvari natriuretikus faktor (ANF) expressziójának növekedése. A miokardiális remodelációban fontos szerepet játszó mátrix metalloproteináz-2 (MMP-2) aktív formájának emelkedett miokardiális szintjét mutattuk ki (Western blot) az AB csoportban. [31, 32, 35]

1.2.2. Fiziológias és patológiás bal kamra hipertrófia részletes funkcionális összehasonlítása patkánymodelleken

A fiziológias (FH) [17, 20, 21] és patológiás (PH) bal kamra hipertrófia részletes funkcionális összehasonlítását elsőként végeztük bal kamrai nyomás-térfogat analízis segítségével releváns kisállat-modelleken. A fiziológias szívizom-hipertrófia kialakulását úszóedzéssel, a patológiásat a hasi aorta műtéti szűkítésével idéztük elő. A bal kamra működését elő- és utóterheléstől független, szenzitív paraméterek segítségével határoztuk meg. Mindkét típusú hipertrófiában a kontraktilitás (ESPVR) növekedését tapasztaltuk, mely arányos volt a hipertrófia mértékével. A diasztolés funkciót jellemző aktív (Tau) relaxáció javult sportszívben, azonban nagyfokú romlást mutatott az aortaszűkített állatoknál. A balkamrai falmerevség (stiffness) mindkét modellben tendenciális növekedést jelzett. Míg a BK mechanikus hatásfoka fiziológias hipertrófia esetén nőtt, patológiás hipertrófiában változatlan maradt. E változások hátterében a mitokondriális regulátorok eltérő expresszióját mutattuk ki. [25, 26, 31, 32, 35]

1.2.3. A miokardiális reverz remodeláció hemodinamikai hatásainak vizsgálata

A patológiás szívizom-hipertrófia (PH) modelljében a változások visszaalakulásának, azaz a miokardiális reverz remodelációnak hemodinamikai hatásait vizsgáltuk, különös tekintettel a kardiális kontraktilitás és a mechanoenergetikai paraméterek változására.

Az állatokban szuprarenális aorta szűkítéssel nyomás-indukált patológiás szívizom-hipertrófiát váltottunk ki, míg áloperált állatok alkották a kontroll csoportokat. A szívizom-hipertrófia kialakulása után, a reverz remodelációt a szűkület eltávolításával (6. hét) idéztük elő. A hipertrófia kialakulását és visszafejlődését echokardiográfia és EKG segítségével követtük a 6. és 12. hét között. Nyomás-konduktancia mikrokatéter alkalmazásával balkamrai P-V analízist végeztünk a kardiális funkció pontos megítélésére.

A szűkület eltávolítása a szívizom-hipertrófia szignifikáns regresszióját eredményezte: szignifikáns csökkenést mutatott a tibiahosszra normalizált szívtömeg és a kardiomiocita átmérő is. A nyomásterhelés megszüntetése eredményesnek bizonyult a PH-ra jellemző elektromos változások (korrigált QT intervallum megnyúlás) és a szisztolés diszfunkció (ejekciós frakció csökkenés) megelőzésében is. A kardiális teljesítőképesség javulásának hátterében a maladaptív kontraktilitás fokozódás visszaalakulását (végszisztolés elasztancia csökkenés) és ennek következtében a szívizom mechanoenergetikájának (mechanikus határfok) szignifikáns javulását detektáltuk. [33, 34]

1.2.4. Patológiás miokardium-hipertrófia és szívelégtelenség miokardiális foszfoprotein-mintázatának vizsgálata patkánymodelleken

Mind a nyomásterheléssel (aortic banding modell), mind a volumenterheléssel (AV-shunt modell) kiváltott patológiás miokardium-hipertrófia és szívelégtelenség patkánymodelljében elvégeztük a balkamrai miokardium foszfoprotein-mintázatának és a protein-kináz szignálok aktiválódásának vizsgálatát (Proteome Profiler immun-assay módszer). Eredményeink szerint az etiológiától függetlenül, mindkét modellben hasonló foszfoprotein-mintázatbeli eltolódást tapasztaltunk a kontrollcsoporthoz képest. Adataink elsősorban a patológiás szívizom-hipertrófiát mediáló (ERK1/2, JNK1/2/3, Akt 1/2/3, GSK3 a/b) erőteljes aktivációját jelzik, az említett faktorok foszforilációjának 2,8-4,1-szeres növekedését tapasztaltuk az egészséges kontrollhoz képest.

1.2.5. A protein-kináz G-t aktiváló experimentális kezelés hatásai patológiás szívizom-hipertrófia kialakulására patkánymodellben (Kezelés #1.)

Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy a protein-kináz G-t (PKG) aktiváló másodlagos messenger cGMP-t termelő szolubilis guanilát-cikláz (sGC) enzim aktivátora, a Cinaciguat nevű vegyület a cGMP-PKG jelátviteli út krónikus serkentésével képes-e meggátolni a nyomástúlterhelés által indukált szívizom-hipertrófiát patkánymodellben. A szívizom-hipertrófiát az abdominális aorta műtéti beszűkítésével (aortic banding, AB) váltottuk ki, míg áloperált állatok alkották a kontroll csoportokat. A műtétet követően az állatok 6 héten át p.o. 10mg/ttkg/nap cinaciguatot (Cin), ill. placebót (Ko) kaptak. Echokardiográfiával jelentős patológiás miokardium-hipertrófiát észleltünk az AB-Ko csoportban, melyet a szívek post mortem vizsgálata, szövettani és molekuláris biológiai (qRT-PCR) feldolgozása is igazolt. A cinaciguat az AB állatokban a vérnyomást nem befolyásolta, ugyanakkor eredményesen gátolta meg a kamrai hipertrófia kialakulását: a balkamrai izomtömeg index értéke, a tibiahosszra normalizált szívtömeg és az átlagos kardiomiocita átmérő szignifikánsan csökkent, a patológiás hipertrófia marker, a β/α -MHC géneexpresszió aránya a miokardiumban normalizálódott. [18, 19, 22, 23, 27]

1.2.6. A protein-kináz G-t aktiváló experimentális kezelés hatásai patológiás szívizom-hipertrófia szívelégtelenségbe történő progressziójára (Kezelés #2.)

Ezekben a kísérletekben azt vizsgáltuk, hogy a cinaciguat, a szolubilis guanilat-cikláz (sGC) enzim aktivátora a nitrogén monoxid – cGMP – protein kináz G jelátviteli út serkentésével képes-e meggátolni a fokozott utóterhelés által kiváltott szívizom-hipertrófia szívelégtelenségbe történő progresszióját patkánymodellben.

A bal kamra fokozott nyomásterhelését itt is aorta-beszűkítéssel (aortic banding; AB) biztosítottuk, míg áloperált állatok alkották a kontroll csoportokat. Az állatok a műtétet követő 7. héttől a 12. hétig p.o. 10mg/ttkg/nap cinaciguatot (Cin), ill. placebót (Ko) kaptak. A hipertrófia időbeli kialakulását echokardiográfiával és elektrokardiográfiával vizsgáltuk. A kísérleti időtartam leteltével balkamrai nyomás-térfogat analízist végeztünk a kardiális funkció pontos megítélésére.

A krónikus cinaciguat kezelés hatékonyan gátolta meg a szívizom-hipertrófia funkcionális dekompenzációját, amely a frakcionális rost-rövidülés, és a végszisztolés elasztancia értékek javulásában mutatkozott meg. Az sGC gyógyszeres aktiválása védett továbbá a szívizom-hipertrófia progressziójával, így a tibiahosszra normalizált szívtömeg és a kardiomiocita átmérő növekedésével, a miokardiális fibrózis (Masson's score) fokozódásával és az aritmogén elektromos változásokkal (korrigált QT intervallum megnyúlással) szemben is. A cinaciguat mindezen hatását változatlan vérnyomás mellett fejtette ki, igazolván a vaszkuláris rezisztenciától független direkt hatását a szívizomsejtekre.

1.2.7. In vitro vaszkuláris funkcionális vizsgálatok szívelégtelenség patkánymodelljén

A projekt keretében tervezett, *in vitro* vaszkuláris funkcionális vizsgálatok végzésére alkalmas miográf mérőrendszer beszerzése megtörtént, a módszer beállítását patkány aortagyűrűk vizsgálatával sikeresen elvégeztük. A patológias miokardium-hipertrófiában és szívelégtelenségben releváns, az endothélfunkció és vaszkuláris simaizomfunkció tanulmányozására tervezett kísérleteket lefolytatattuk. Patkányainkban az abdominális aorta műtéti beszűkítésével nyomás-indukált szívizom-hipertrófiát váltottunk ki, mely 12 hét elteltével kamradilatációba, majd szívelégtelenségbe torkollott. Áloperált állatok alkották a kontroll csoportot. Az állatok mellkasi aortáját eltávolítottuk, izolált aortagyűrűket preparáltunk, melyeken a miográf rendszerben vazokonstriktós (fenilefrin), valamint endothélfüggő (acetilkolin) és nem endothélfüggő (nátrium-nitroprosszid) vazorelaxációs válaszokat váltottunk ki. Szívelégtelenségben szignifikánsan fokozott vazokonstriktiót és károsodott endothélfunkciót mutattunk ki.

1.2.8. Az omecamtiv mecarbil hemodinamikai hatásainak vizsgálata balkamrai nyomás-térfogat analízissel

Az omecamtiv mecarbil (OM) egy szívspecifikus miozin aktivátor, amely a szívelégtelenség kezelésében tölthet be fontos szerepet. Első lépésben az OM kardiális funkcióra gyakorolt hatását vizsgálatuk bal kamrai nyomás-térfogat analízis segítségével altatott patkányokban. A kiindulási állapotban, majd 1200mg/kg OM iv. beadása után regisztráltuk a balkamrai nyomás- és térfogatviszonyokat. OM hatására a végszisztolés nyomás csökkenését tapasztaltuk. Változatlan végdiasztolés térfogat mellett csökkent a végszisztolés térfogat, így emelkedett a verővolumen és az ejekciós frakció. A bal kamra aktív relaxációját jelző paraméterek a diasztolés funkció romlását jelezték. Méréseink alapján az OM ígéretes farmakoterápiás lehetőséget nyújthat a bal kamra szisztolés funkciójának növelésére, azonban a diasztolés funkciót ronthatja. [30]

1.2.9. Az aortaív-csere nagyállatmodellje:

A centrális nagyerek érprotézissel történő pótlása a szélkazan-működés jelentős csökkenése révén növeli a bal kamra utóterhelését és szívelégtelenség kialakulását idézheti elő. Az aortaív-csere nagyállatmodelljén kimutattuk, hogy a konvencionális érprotézisek helyett decellularizált aortaív-

allograftok beültetésével megőrizhető a normál szélkazan-funkció és a ventrikulo-arteriális kapcsolás. [24]

1.2.10. Az egyszeri, hosszan tartó, kimerítő fizikai terhelés kardiális hatásának vizsgálata

Patkánymodellben igazoltuk az akut, kimerítő fizikai terhelés okozta szívizomsérülést és nitro-oxidatív stresszt és részletesen leírtuk a kimerítő fizikai terhelés okozta balkamrai diszfunkciót. Adataink a kontrollokhoz képest a balkamrai szisztolés funkció (csökkent kontraktilitás, ESPVR) és a mechanoenergetika (mechanikus hatások) romlását mutatták változatlan diasztolés funkció mellett 2 órával a kimerítő terhelés után. *In vitro* mérésekkel intenzív proapoptotikus és profibrotikus aktiválódás jeleit mutattuk ki a miokardiumban. [28, 29]

1.3. Különböző hatásmechanizmusú inotróp ágensek hatékonyságának és interakcióinak vizsgálata a szívelégtelenség nagyállat-modelljében

A nagy frekvenciájú szívingerléssel előidézett krónikus szívelégtelenség (CHF) nagyállat (kutya) modelljében, annak hemodinamikai, biokémiai és szövettani vizsgálatokkal történt validációja után először a modell további jellemzésére vizsgáltuk új, potenciális szívelégtelenség markerek megjelenését. Ilyenek a kardiovaszkuláris hatásokkal bíró (de elsődlegesen nem szíveredetű hormon) ghrelin és leptin, melyek plazmaszintjének növekedését itt (40) és humán vizsgálatokban is (36, 37) igazoltuk. Szívizom mintákban vizsgáltuk a gyulladásban és immunválaszban szerepet játszó HPRT-1, CCL-2, IL-8; fibrózisért és patológiás remodelling kialakulásáért felelős TGF β -2, SPP-1, VCAM, TIMP-1, Col1A-2, MMP-1, továbbá az oxidatív stressz hatására aktiválódó HSP-70, STC-1 géneket, melyek közül a CCL-2 TGF β -2 SPP-1 VCAM TIMP-1 Col1A-2 szignifikáns expresszió-növekedését igazoltuk. A főtális szívizomfehérjék (a/bMHC) expressziós arányaiban azonban nem találtunk különbséget a két csoport között.

Fenti modellben - a humán terápiában akut kardiális dekompenzáció során alkalmazott - egyes szívserkentő szerek (katekolaminok, KAT: dobutamin, dopamin és noradrenalin, illetve a Ca-érzékenyítő levosimendan, LEV) különálló és kombinált intravénás alkalmazásának hemodinamikai hatékonyságát és aritmogenitását vizsgáltuk két nem-szívelégtelen (kontroll, K) és két szívelégtelen (CHF) csoportban, 4 kísérleti felállásban (K – KAT, K - LEV+KAT, CHF - KAT, CHF - LEV+KAT). Az ágensek adása során szisztematikusan és a katekolaminokra nézve dóziszfüggő módon vizsgáltuk a mechanikus és elektromos szívfunkcióra (bal kamrai kontraktilitás és relaxáció, \pm LVdP/dt; bal és jobb kamrai endo- és epikardiális monofázisos akciós potenciál időtartam, MAPD; szívfrekvencia, aritmia-típusok) és az artériás nyomásra (BP) kifejtett hatásokat. A súlyos, de nem végstádiumú szívelégtelenséget mutató állatokon a dobutamin, a dopamin és a noradrenalin is az egészségesekéhez arányaiban hasonló mértékű és dóziszfüggő kontrakciós-relaxációs választ volt képes kiváltani, ami – a modellben leírt krónikusan megemelkedett plazma katekolamin koncentrációk ellenére – valószínűleg megtartott beta-adrenerg receptor-érzékenységre utal. CHF állatokon a LEV önmagában is jelentős, mintegy 40%-os LVdP/dtmax és LVdP/dtmin fokozódást idézett elő, majd katekolaminokkal együttadásban a kontraktilitást tekintve szinergista módon növelte azok effektusát (38). Ugyanakkor a LEV jelentősebb perifériás érhatást nem váltott ki, sőt, valószínűleg a kontraktilitás javulásának következményeként az artériás középnyomás (másodlagosan) tendenciájában inkább emelkedett. A szer magában és a katekolaminokkal együtt adva egyik csoportban sem idézett elő malignus kamrai aritmiát és a szer - MAP rövidülést okozó hatása ellenére – az enyhe aritmiaformák gyakoriságát sem növelte (39, 41). Ebben a modellben nyert eredmények szerint tehát a levosimendan és a vizsgált katekolaminok önmagukban és szükség esetén

kombinációban is hatékonyan és biztonságosan alkalmazhatók a szív kontrakciós erejének és a szív működés hatékonyságának fokozására.

A másik szívserkentő ágens, a specifikus miozin aktivátor (omecamtiv mecarbil) vizsgálatát - a szer rendkívül magas ára miatt - *in vivo* kisállat-modellre (patkány) tettük át (ld. 1.2.8. pont alatt).

2. Klinikai kutatómunka

2.1. A szív reszinkronizációs terápiára (CRT) adott klinikai válasz előrejelzésére alkalmas gyulladási markerek vizsgálata

Klinikánk Szívelégtelenség Kutatócsoportja a CRT klinikai kimenetelét meghatározó prospektív vizsgálatban jelentős új eredményeket ért el, új prediktorokat azonosított a kutatás során. A csoportban a témán a pályázati időszakban 4 PhD hallgató és 5 tudományos diákkörös hallgató dolgozott.

Mivel korábban a vizsgálat 2 éves követése megvalósult, a vizsgálat követési idejét 5 évre terjesztettük ki, így az eredményeket már a viszonylag hosszú távú követési eredmények adatainak felhasználásával elemeztük.

Ezen új gyulladási markerek 1/ a C3a, 2/ az apelin, 3/ a neutrofil és limfocita arány (N/L), 4/ a vörösvérsejtek eloszlási görbéjének szélessége (RDW), 5/ a carbohydrate antigen (CA-125), 6/ a fractalkine és a hepatocyte growth factor (HGF) voltak.

A korábban azonosított új gyulladási marker, a komplement rendszer C3a fehérjéje szignifikáns prediktív értékkel rendelkezik a CRT-n átesett betegekben a kimenetel tekintetében, míg a széles körben használt marker a C-reaktív fehérje nem (80).

Elsőként mutattuk ki, hogy a szérum apelin szintje összefüggést mutat a CRT-re adott klinikai válasszal. Felismertük, hogy a szérum apelin szintje jobb prediktor, mint az NT-proBNP (43, 72).

Megerősítve azt a feltételezést, hogy a szisztémás gyulladási válasz jelentős szerepet játszhat a szívelégtelenség patogenezisében klinikai vizsgálatunkban igazoltuk azt, hogy a neutrofil és limfocita sejtek aránya (N/L arány) szignifikánsan meghatározza a CRT utáni klinikai kimenetelt és a 2 éves mortalitást (62).

A vörösvérsejtek eloszlási görbéjének szélessége (RDW) az anizocitózis markere. Ismert, hogy számos betegségben az RDW a mortalitás egyik fő meghatározója. Igazoltuk, hogy az RDW előre jelzi a hosszú távú 5 éves mortalitást CRT-n átesett betegekben (71). A prediktív érték független a többi releváns klinikai változótól és reklasszifikációs eljárással sikerült azt is igazolnunk, hogy a többlet értékkel rendelkezik az NT-pro-BNP-vel szemben (68).

A carbohydrate antigen (CA-125) egy jól ismert és az onkológiában széles körben használt biomarker. Kevésbé ismert az, hogy szívelégtelen betegekben a betegség súlyosságával összefüggést mutat, melynek hátterében feltehetőleg a folyadék státusz megváltozásának reflektálása áll. Kutatócsoportunk elsőként azonosította, hogy biomarker sikeresen jelzi előre 2 éves halálozást CRT-n átesett betegpopulációban (69).

A fractalkine (CX3CL1) egy gyulladási kemokin. Számos tanulmány bizonyította a szerepét szívelégtelenség patogenezisében. Kutatócsoportunk azonban elsőként azonosította, hogy a gyulladási biomarker sikeresen jelzi előre a 6 hónapos válaszkészséget és a 2 éves halálozást CRT-n átesett betegpopulációban (51).

A HGF pluripotens hatású növekedési faktor, valamint pleiotrop kardioprotektív hatásokkal is bír. Szintén elsőként azonosítottuk, hogy a fehérje emelkedett szintje megnövekedett mortalitást jelez előre ebben a betegcsoportban. A HGF szívelégtelenség patogenezisében való szerepét jelzi az is, hogy szintje csak a reszinkronizációs terápiára jól reagáló betegekben csökken le, vagyis ahol a betegség az eszközös kezelés által reverzibilisnek bizonyult. Eredményeinket több, 2016 évi nemzetközi konferenciáján bemutattuk (75, 76, 77). A CA-125, a fractalkine és a HGF CRT-ben betöltött szerepéről írt kézirat bírálata alatt van (78).

A kutatási időszakban további négy nem-laboratóriumi markert azonosítottunk, mely hatékonyan jelzi a CRT-re adott klinikai választ: 1/ a jobb kamrai funkciót, 2/ a mitrális regurgitációt, 3/ a két kamra közti aktiváció idejét és 4/ az interventrikuláris disszinkronia felszíni EKG jelét.

Elsőként ismertük fel azt, hogy a jobb kamra funkcióját mutató echocardiographiás paraméterek (kamrai átmérő, végdiasztolés falvastagság, hosszátmérő, globális longitudinális strain) szignifikánsan összefüggnek a CRT utáni a korai mortalitással (64).

Korábban igazoltuk, hogy a mitrális regurgitáció kezdeti súlyossága nem befolyásolja a reszinkronizációs terápia eredményességét, a hat hónap elteltével azonban a súlyos mitrális regurgitáció szignifikánsan rosszabb kimenetelt jelez. Új eredményként megfigyeltük, hogy papilláris disszinkronia jelenléte esetén a reszinkronizációs terápia nem effektív a szekunder mitrális regurgitáció csökkentésében. Eredményeinket a European Society of Cardiology (ESC) 2016 évi konferenciáján mutattuk be (49, 56, 58, 59).

A harmadik általunk vizsgált paraméter az implantáció alatt a jobb és bal kamrai jelek között eltelt idő volt különböző eredetű szívelégtelenségben (48, 47, 55, 63), mely eredményeink alapján a CRT utáni mortalitás önálló prediktora (63).

A megnövekedett interventrikuláris disz-szinkronia meghatározza a CRT kezelés hatékonyságát. Az általunk azonosított, a felszíni EKG-ból származtatott (V1 és V2 elvezetések) késői kamrai aktivációs idő variabilitása jól korrelál az interventrikuláris disz-szinkronia mértékével. Ezen paraméter megbízható prediktornak bizonyult CRT kezelés utáni a 6 hónapos válaszkészség és a halálozás előrejelzésében (52, 53).

Korábban saját beteganyagunkból adatbázist hoztunk létre, mely alkalmas biventricularis upgrade műtéten átesett betegekben CRT terápia hatékonyságának vizsgálatára. A téma jelentőségét bemutató és célkitűzésként is szereplő magyar nyelvű összefoglaló közlemény elfogadásra került (95). Felismerve a téma kiemelt klinikai jelentőségét az upgrade műtét vizsgálatára egy prospektív, randomizált, több-centrumos, több országot érintő klinikai vizsgálatot (BUDAPEST STUDY) terveztünk meg. A vizsgálatba 360 beteget tervezünk bevonni, akik randomizáltan CRT-D ill. ICD kezelésben részesülnek. A vizsgálat az etikai engedélyek megszerzését követően 2015 második negyedében világszerte elindult.

A kutatás további hozadéka volt nagyszámú, a CRT kivitelezésére vonatkozó metodikai vizsgálat és technikai eredmény is. Ezek az eredmények a kamrai elektróda pozíció- (epicardiális vs. endokardiális) és polaritás-megválasztásának a reszinkronizáció hatékonyságára való hatására (65, 66); az elektródák speciális helyeken (pl. sinus coronarius) vagy speciális módon (transzseptálisan - endokardiálisan) való alkalmazásának technikai lehetőségeire és annak biztonságosságára (44, 45, 60); az elektroanatómiai térképezés és guiding transzseptális elektród-beültetésnél való fontosságára (42) vonatkoznak, valamint arra, hogy miként csökkenthető a légzési artefaktum, illetve javítható ezáltal a képminőség számítógépes kapuzó algoritmus alkalmazásával (57, 81). Vizsgálataink kiterjedtek a kérdőív által (Euroqol-5D) meghatározott életminőség mortalitást előrejelző szerepére a CRT beültetésen átesett betegek körében

(73, 74). Végül a szívelégtelenséghez gyakran társuló és azt súlyosbító ritmuszavar néhány speciális megoldását bemutató közleményünk is megjelent (50, 61, 67, 70, 79).

2.2. Hazai kardiovaszkuláris egészségi állapot-felmérés reprezentatív populációban: a Budakalász Vizsgálat

A Budakalász Vizsgálatba történő beválasztás a múlt évben lezárult. Az ennek során vett nagyszámú (> 30 ezer) biológiai minta a Semmelweis Egyetem Szív- és Érgyógyászati Klinikájának e célra létrehozott Biobankjában került eltárolásra. A vizsgálatok során begyűjtött adatok elemzése során 2054 fő estében végeztük el a carotis intima-media thickness (CIMT) és a boka-kar index (BKI) meghatározását, 534 fő esetén megtörtént a calcium-score (alacsony sugárdózisú CT) vizsgálatok kiértékelése, 110 fő esetén a CT képek felhasználásával a NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease) meghatározás történt a képi markerek alapján, 517 fő estén epicardiális zsír mennyiség meghatározást végeztünk. A BKI és CIMT illetve a Findrisk pontrendszer alkalmazásával nyert adatok és HbA értékek korrelációja alapján a szubklinikus atherosclerosis és a 2-es típusú diabetes rizikó kapcsolatát írtuk le.

Az eddigi eredményeket hazai folyóiratokban jelentettük meg (82, 83).

2.3. A kardiális allograft vaszkulopátia vizsgálatának lehetőségei szívtranszplantált betegekben

A végstádiumú szívelégtelenség definitív terápiája a szívtranszplantáció (HTX). A betegek egy éven túli halálozásának egyik legfontosabb oka a kardiális allograft vaszkulopátia, ezért a HTX- betegek koronária státuszának évenkénti ellenőrzése elengedhetetlen. Ennek standard módszere az invazív koronária angiográfia, melynek rendszeres ismétlése nagy megterhelést jelent a betegnek. A koronária CT angiográfia (CCTA) magas negatív prediktív értéke alapján az invazív módszer alternatívája lehet. Ugyanakkor a HTX-betegek magasabb nyugalmi szívfrekvenciája relatív kontraindikációt képezhet.

A CCTA felvételek során a magas szívfrekvenciából adódó mozgási műtermék jelenlétét négyfokozatú skálán értékeltük, majd az eredményeket a képminőséget befolyásoló paraméterek alapján válogatott kontroll csoporttal hasonlítottuk össze. Az eddigi 41 betegvizsgálat alapján a HTX-betegek magasabb szívfrekvenciája ellenére a CCTA felvételek diagnosztikus értéke (feltehetően a reguláris ritmus és a csökkent pitvari kontrakció miatt) rendkívül magas, szemben a kontrollal, ahol szignifikánsan rosszabb képminőséget találtunk (84, 85). A non-invazív CCTA tehát az invazív koronarográfia megfelelő alternatívája lehet.

2.4. Biokémiai változások végstádiumú szívelégtelenségben: vizsgálatok szívtranszplantáció során nyert szövet- és vérmintákból

Szívtranszplantációra kiválasztott szívelégtelen betegekből (25) származó mintákon kimutattuk, hogy az oxidatív stresszre jellemző poli(ADP-ribóz) polimeráz (PARP) enzim aktivációja a miokardiumban jelentősen fokozódik, mely az endokardiális felszín közelében szignifikánsan magasabb, valamint az epikardiálisan mért aktivitás negatív korrelációt mutat a betegek ejekciós frakciójával és pozitív összefüggést a pulzusszámmal. Ezt követően vizsgáltuk a nitratív stressz-re jellemző nitro tirozin (NTN) képződés mértékét. A PARP aktivációhoz hasonlóan az endokardiális felszínen kifejezettebb nitratív stressz van jelen és mind az endo-, mind pedig az epikardiális felszín közelében látott nitratív stressz szintén negatív korrelációt mutat ez ejekciós frakcióval, valamint pozitív korrelációt a vércukor szinttel.

Ugyanezen betegekben a keringő leukocitákban detektált PARP aktivitás pozitívan korrelált a C-reaktív protein, míg az NTN képződés a procalcitonin szintekkel.

Emellett 16 kontroll és 21 krónikus szívelégtelenségben szenvedő betegben (NYHA II-III) határoztuk meg a véralkotókban mérhető oxidatív stressz, a PARP aktiváció és az apoptózis-indukáló faktor (AIF) transzlokáció mértékét. A plazma összperoxid szint, a teljes antioxidáns kapacitás (TAC), valamint a keringő leukocitákban meghatározott PARiláció és AIF transzlokáció mértéke szignifikánsan magasabb volt a beteg kohorszban. A leukociták tirozin nitrációjában nem volt szignifikáns különbség a két csoport között. A teljes kohorszt tekintve összperoxid, az oxidatív stressz index (OSI=PRX/TAC), leukocita PARP aktiváció és AIF transzlokáció esetében pozitív korrelációt találtunk a proBNP-szinttel. Kizárólag a betegcsoportot nézve az összperoxid szint, az OSI és a leukocitákban mérhető PARP aktivitás továbbra is szignifikáns pozitív összefüggést mutatott a proBNP szinttel.

Mindezek alapján mind a lokális, mind a szisztémás oxidatív-nitratív stressz a krónikus szívelégtelenség e stádiumaiban összefüggést mutat a szív diszfunkciójának mértékével (86). Az eredményeinkből folyóiratcikk készítése folyamatban

2.5. A bal kamrai geometria MRI-vezérelt sebészi rekonstrukciója aneurizmás betegekben: személyre szabott remodellizáció

Súlyos szívelégtelenségben a dilatált bal karma (LV) sebészi rekonstrukciója alacsony perctérfogat szindróma (LCO) kockázatával jár. Ennek minimalizálására speciális módszert fejlesztettünk ki a korszerű sebészeti technika és MRI/CT képalkotás kombinálásával. Ennek segítségével egy három dimenziós képzendő LV térfogatot tervezünk, melynél a rezekciós vonalak által nyert volumen-csökkenésnek el kell érnie a 30%-t, a maradék LV térfogat pedig nem csökkenhetett a normál érték alá. A beteg-kiválasztásnál mitralis billentyű elégtelenség vagy pulmonális hipertónia nem volt kizáró ok.

Az elvégzett 41 műtétnél súlyos szövődmény 13 esetben fordult elő (32%), halálozás nem. A kontroll MR az LV ejekciós frakció szignifikáns javulását mutatta ($p < 0,05$). Minden beteg funkcionális állapota javult (NYHA III/IV vs. NYHA I/II). A hosszútávú utánkövetés során 1 beteget veszítettünk el végstádiumú CHF miatt. A módszer alkalmasnak bizonyult az optimális LV rezekció tervezésére és csökkentette a posztoperatív LCO kialakulását. (87)

3. Disszertációk, összefoglalók, könyvfejezetek, áttekintések

Az eredeti közleményekben publikált eredményeken kívül klinikai és experimentális munkánk három PhD disszertáció (16, 28, 37), valamint számos összefoglaló közlemény, könyvfejezet és áttekintő előadás alapjául szolgált a szívelégtelenséghez kapcsolódó remodelling és reverz remodelling jelenségkörében (88-97).

Budapest, 2016. szeptember 28.

Dr. Merkely Béla, DSc
egyetemi tanár
témavezető

1. Mioulane M; Földes G; Ali NN; Schneider MD; Harding SE: Development of high content imaging methods for cell death detection in human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *J Cardiovasc Transl Res*; 5(5):593-604., 2012 IF: 3.062
2. Gara E, Merkely B, Földes G: Óssejtek és érrendszeri megbetegedések. Hogyan készítsünk ereket? *Élet és Tudomány*; 68(15):470-71, 2013
3. Kovács A, Kosztin A, Solymossy K, Celeng C, Apor A, Faludi M, Berta K, Széplaki G, Földes G, Merkely B: Novel biomarkers associated with increased left ventricular mass measured by three-dimensional echocardiography in patients with end-stage renal disease. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*; 2013; 14(S2): ii190, 2013
4. Reed D, Földes G, Harding SE, Mitchell JA: Stem cell derived endothelial cells for cardiovascular disease; a therapeutic perspective. *Br J Clin Pharmacol*; 75(4):897-906, 2013 IF: 3.688
5. Földes G, Mioulane M, Kodagoda T, Lendvai Z, Iqbal A, Ali NN, Schneider MD, Harding SE: Immunosuppressive agents modulate function, growth and survival of cardiomyocytes and endothelial cells derived from human embryonic stem cells. *Stem Cells Dev*; 23:467-76, 2014 IF: 3.727
6. Gara E, Márky Á, Varga R, Lendvai Zs, Skopál J, Kosztin A, Szigetfű É, Merkely B, Földes G: Pluripotens óssejtek angiogenetikus tulajdonságainak jellemzése. *Cardiol Hung*; 44 (Suppl. E): 52, 2014
7. Gara E, Skopál J, Kosztin A, Merkely B, Harding S E, Foldes G: Angiogenic potential of human pluripotent stem cell-derived arterial and venous endothelial cells. *Cardiovasc Res*; 103(S1): 47, 2014
8. Gara E, Skopál J, Merkely B, Harding SE, Földes G: Angiogenic properties of human pluripotent stem cell-derived arterial and venous endothelial cells. *Acta Physiol*; 697(SI): 52, 2014
9. Kosztin A, Polgár L, Kőhidai L, Várnai P, Gara E, Skopál J, Harding S, Merkely B, Földes G: Angiogenic and positive inotropic effects of apelin fragments on human pluriprotein stem cell-derived cardiovascular cells. *Acta Physiol*; 697(SI): 84, 2014
10. Reed DM, Földes G, Gatheral T, Paschalaki KE, Lendvai Z, Bagyura Z, Nemeth T, Skopal J, Merkely B, Telcian AG, Gogsadze L, Edwards MR, Gough P, Bertin J, Johnston SL, Harding SE, Mitchell JA: Pathogen sensing pathways in human embryonic stem cell derived-endothelial cells: Role of NOD1 receptors. *PLoS One*; 9(4):e91119, 2014 IF: 3.234
11. Reed DM, Földes G, Kirkby NS, Ahmetaj-Shala B, Mataragka S, Mohamed N; Francis CM, Gara E, Harding SE, Mitchell JA: Morphology and vasoactive hormone profiles from endothelial cells derived from stem cells of different sources. *Biochem Biophys Res Commun*; 455(3-4):172-7, 2014 IF: 2.297
12. Dolatshad NF, Hellen N, Jabbour R, Harding SE, Földes G: G-Protein coupled receptor signalling in pluripotent stem cell-derived cardiovascular cells: implications for disease modelling. *Front Cell Dev Biol*; 3: Article 76, 1-17, 2015
13. Földes G, Matsa E, Kriston-Vizi J, Leja T, Amisten S, Kolker L, Kodagoda T, Dolatshad N, Mioulane M, Vauchez K, Arányi T, Ketteler R, Schneider M, Denning C, Harding S: Aberrant α -Adrenergic Hypertrophic

Response in Cardiomyocytes from Human Induced Pluripotent Cells. *Stem Cell Rep*; 3(5): 905-914, 2015 IF: 5.365

14. Merkely B, Gara E, Lendvai Z, Skopal J, Leja T, Zhou W, Kosztin A, Várady G, Mioulane M, Bagyura Z, Nemeth T, Harding SE, Földes G: Signalling via PI3K/FOXO1A Pathway Modulates Formation and Survival of Human Embryonic Stem Cell-Derived Endothelial Cells. *Stem Cells Dev*; 24(7): 869-878, 2015 IF: 3.777

15. Chahine MN, Mioulane M, Sikkell MB, O'Gara P, Dos Remedios CG, Pierce GN, Lyon AR, Földes G, Harding SE: Nuclear pore rearrangements and nuclear trafficking in cardiomyocytes from rat and human failing hearts. *Cardiovasc Res*; 105(1): 31-43, 2015 IF: 5.465

16. Gara E: Humán pluripotens őssejt-eredetű endothelsejtek jellemzése. Doktori tézisek., Semmelweis Egyetem, Budapest, 2016

17. Radovits T, Oláh A, Lux A, Németh BT, Hidi L, Birtalan E, Kellermayer D, Mátyás C, Szabó G, Merkely B: Rat model of exercise-induced cardiac hypertrophy - hemodynamic characterization using left ventricular pressure-volume analysis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 305(1): H124-134, 2013 IF: 4.012

19. Mátyás C, Oláh A, Németh BT, Hidi L, Ruppert M, Lux Á, Kellermayer D, Merkely B, Radovits T: A szolubilis guanilat-cikláz gyógyszeres aktiválása meggátolja a nyomás-indukált szívizom-hipertrofia kialakulását. *Cardiol Hung*; 44 (Suppl. E):31, 2014

19. Németh BT, Mátyás C, Oláh A, Hidi L, Ruppert M, Lux Á, Kellermayer D, Merkely G, Merkely B, Radovits T: Pharmacological activation of the soluble guanylate cyclase inhibits pressure overload-induced cardiac hypertrophy. *Cardio Croat*; 9: 245, 2014

20. Oláh A, Lux Á, Németh BT, Mátyás Cs, Kellermayer D, Birtalan E, Ruppert M, Szabó L, Hidi L, Török M, Merkely G, Meltzer A, Merkely B, Radovits T: Development and complete morphological and functional reversibility of athlete's heart in a rat model. *Acta Physiol*; 697(SI): 161, 2014

21. Oláh A, Lux Á, Németh BT, Mátyás Cs, Kellermayer D, Ruppert M, Szabó L, Merkely G, Merkely B, Radovits T: Reversible cardiac hypertrophy and left ventricular functional changes after exercise training in a rat model. *Cardiovasc Res*; 103(S1): P74, 2014

22. Radovits T, Matyas C, Olah A, Nemeth BT, Hidi L, Ruppert M, Lux A, Kellermayer D, Szabo G, Merkely B: The soluble guanylate cyclase activator cinaciguat prevents pressure overload-induced cardiac hypertrophy. *Eur Heart J*; 35(S1): 882 / P4927, 2014

23. Radovits T, Mátyás C, Oláh A, Németh BT, Hidi L, Ruppert M, Lux Á, Merkely G, Kellermayer D, Merkely B: Pharmacological activation of the soluble guanylate cyclase inhibits pressure overload-induced cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res*; 103(S1): P508, 2014

24. Weymann A, Radovits T, Schmack B, Korkmaz S, Li S, Chaimow N, Pätzold I, Becher PM, Hartyánszky I, Soós P, Merkely G, Németh BT, Istók R, Veres G, Merkely B, Terytze K, Karck M, Szabó G: Total aortic arch replacement: Superior ventriculo-arterial coupling with decellularized allografts compared with conventional prostheses. *PLoS One*; 9: e103588, 2014 IF: 3.234

25. Kovács A, Oláh A, Lux Á, Mátyás C, Németh BT, Kellermayer D, Ruppert M, Török M, Szabó L, Meltzer A, Assabiny A, Birtalan E, Merkely B, Radovits T: Strain and strain rate by speckle tracking echocardiography correlate with pressure-volume loop derived contractility indices in a rat model of athlete's heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 308(7): H743-H748, 2015 IF: 3.324
26. Kovács A, Oláh A, Lux Á, Mátyás C, Németh BT, Kellermayer D, Szabó L, Braun S, Merkely B, Radovits T: Strain and strain rate by speckle-tracking echocardiography reflect both the effects of exercise training and detraining in a rat model of athlete's heart. *Eur Heart J*; 36 (Suppl 1): 373, 2015
27. Németh BT, Mátyás C, Oláh A, Hidi L, Ruppert M, Lux Á, Kellermayer D, Merkely G, Merkely B, Radovits T: The soluble guanylate cyclase activator cinaciguat inhibits pressure overload-induced cardiac hypertrophy. *Eur J Heart Fail* 17 (Suppl. 1): 30, 2015
28. Oláh A: Cardiac effects of long-term exercise training and acute exhaustive exercise in rat models. *Doktori Tézisek., Semmelweis Egyetem, Budapest, 2015*
29. Oláh A, Németh BT, Mátyás Cs, Horváth EM, Hidi L, Birtalan E, Kellermayer D, Ruppert M, Merkely G, Szabó G, Merkely B, Radovits T: Cardiac effects of acute exhaustive exercise in a rat model. *Int J Cardiol*; 182(1): 258-266, 2015 IF: 4.638
30. Fülöp GÁ, Kovács Á, Nagy L, Csípő T, Juhász B, Priksz D, Pórszász R, Radovits T, Oláh A, Papp Z, Tóth A: A direkt miozin aktivátor Omecantiv mecarbíl kardiovaszkuláris mellékhatásai. *Card Hung*; 46: F47, 2016
31. Oláh A, Németh BT, Mátyás C, Hidi L, Lux Á, Ruppert M, Kellermayer D, Sayour AA, Szabó L, Török M, Meltzer A, Gellér L, Merkely B, Radovits T: Physiological and pathological left ventricular hypertrophy of comparable degree is associated with characteristic differences of in vivo hemodynamics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 310: H587-97, 2016 IF: 3.324
32. Oláh A, Németh BT, Mátyás C, Lux Á, Ruppert M, Kellermayer D, Szabó L, Török M, Sayour AA, Meltzer A, Benke K, Merkely B, Radovits T: Characteristic distinction of energy-dependent hemodynamics in physiological and pathological left ventricular hypertrophy is related to different myocardial expression of mitochondrial regulators. *Eur Heart J*; 37(Suppl.1): 24, 2016
33. Ruppert M, Korkmaz-Icöz S, Li S, Merkely B, Karck M, Szabó G, Radovits T: Electrical reverse remodeling following pressure unloading in a rat model of left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J*; 37(Suppl.1): 113, 2016
34. Ruppert M, Korkmaz-Icöz S, Li S, Németh BT, Hegedüs P, Brlecic P, Mátyás C, Zorn M, Merkely B, Karck M, Radovits T, Szabó G: 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*; 311: H592-603, 2016 IF: 3.324
35. Oláh A, Németh BT, Mátyás C, Lux Á, Ruppert M, Kellermayer D, Sayour AA, Szabó L, Merkely B, Radovits T: Distinct myocardial expression of mitochondrial regulators is associated with characteristic differences of in vivo hemodynamics in physiological and pathological left ventricular hypertrophy. *Eur J Heart Fail*; 18(Suppl.1): 425, 2016

36. Sax B, Merkely B, Túri K, Nagy A, Ahres A, Hartyánszky I, Hüttl T, Szabolcs Z, Cseh K, Kékesi V: Characterization of pericardial and plasma ghrelin levels in patients with ischemic and non-ischemic heart disease. *Regul Pept*; 186C: 131-136, 2013 IF: 2.014
37. Sax B: A gherlin kardiovaszkuláris hatásai. Doktori tézisek, Budapest, 2013
38. Sax B, Nagy KV, Vegh EM, Kosztin A, Szucs G, Zima E, Turi-Kovacs N, Kekesi V, Merkely B: Interaction of Ca-sensitiser levosimendan and different catecholamines in chronic heart failure: experimental studies. *Acta Physiol (Oxf.)*; 211(Suppl. 697): 86, 2014
39. Nagy KV, Végh EM, Kosztin A, Zima E, Sax B, Bárány T Kékesi V, Merkely B: Levosimendan-katekolamin kombinált kezelés haemodinamikai hatékonyságának és arrhythmogenitásának vizsgálata kísérletes szívelégtelenségben. *Cardiol Hung* 44 (Suppl E): 31-32, 2014
40. Végh EM, Sax B, Nagy KV, Kosztin A, Kékesi V, Szűcs G, Zima E, Merkely B: Investigation of novel biomarkers in an experimental model of chronic heart failure. *Eur Surg Res*; 52: 133, 2014
41. Nagy KV, Vegh EM, Sax B, Kosztin A, Zima E, Turi-Kovacs N, Kekesi V, Merkely B: Co-administration of levosimendan and different catecholamines in experimental heart failure: haemodynamic and arrhythmogenic effects. *Eur Surg Res*; 52: 148, 2014
42. Kutya V, Merkely B, Szilágyi Sz, Zima E, Róka A, Király Á, Osztheimer I, Molnár L, Széplaki G, Gellér L: Usefulness of Electroanatomical Mapping during Transseptal Endocardial Left Ventricular Lead Implantation. *Europace*; 14(4): 599-604, 2012 IF: 2.765
43. Kosztin A, Széplaki G, Nagy KV, Apor A, Liptai Cs, Molnár L, Zima E, Gellér L, Merkely B: Serum apelin as a predictor of right ventricular dysfunction. *Europace*; 15(Suppl.2): 499, 2013
44. Balázs T, Merkely B, Bognár E, Gellér L, Szilágyi Sz, Dobrányszky J, Zima E: Methods for examination an explanted coronary sinus lead stabilized with a coronary stent. *PACE*; 36(2): e27-e30, 2013 IF: 1.250
45. Balázs T, Merkely B, Bognár E, Zima E: Interaction of intraluminal tissue and coronary sinus lead stabilized with stent placement. *JCE*; 24(4): 468-470, 2013 IF: 3.234
46. Kovács A, Kosztin A, Solymossy K, Celeng C, Apor A, Faludi M, Berta K, Széplaki G, Földes G, Merkely B: Novel biomarkers associated with increased left ventricular mass measured by three-dimensional echocardiography in patients with end-stage renal disease. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2013; 14(S2): ii190, 2013
47. Kutya V, Gellér L, Zima E, Szilágyi Sz, Szűcs G, Nagy KV, Kosztin A, Molnár L, Széplaki G, Merkely B: Right ventricular to left ventricular interlead sensed delay predicts all-cause mortality in CRT patients. *Europace*; 15(Suppl.2): 499, 2013
48. Kutya V, Zima E, Szilágyi Sz, Róka A, Szűcs G, Molnár L, Kosztin S, Széplaki G, Gellér L, Merkely B: Intraoperative right to left ventricular interlead delay predicts outcome in CRT patients. *Eur Heart J*; 34(Suppl.1): 10, 2013

49. Liptai Cs, Perge P, Kosztin A, Nagy KV, Kutyifa V, Gellér L, Apor A, Széplaki G, Merkely B: A mitrális regurgitáció jelentősége a kardiális reszinkronizációs terápia hatékonyságában. *Card Hung*; 43: B85-6, 2013
50. Özcan EE, Osztheimer I, Széplaki G, Merkely B, Gellér L: Successful ablation of atrioventricular nodal re-entrant tachycardia in a patient with interruption of inferior vena cava and azygos continuation. *Can J Cardiol*; 29(12): 1741.e9-e11, 2013 IF: 3.940
51. Boros A, Perge P, Osztheimer I, Szilagyi S, Zima E, Geller L, Molnár L, Merkely B, Szeplaki G: The role of fractalkine in the resynchronization therapy of heart failure. *Eur Heart J*; 35: 99-100, 2014
52. Boros A, Schlögl S, Szelényi Zs, Zima E, Gellér L, Molnár L, Széplaki G, Merkely B: EKG paraméterek szerepe a szívelégtelenség reszinkronizációs kezelésében. *Cardiol Hung*; 44 (Suppl. E): 105, 2014
53. Boros A, Simon S, Osztheimer I, Szilagyi S, Zima E, Geller L, Molnar L, Merkely B, Szeplaki G: The role of ECG parameters in the resynchronization therapy of heart failure patients. *Eur Heart J*; 35: 92-93, 2014
54. Jenei ZM, Zima E, Csuka D, Munthe-Fog L, Hein E, Széplaki G, Becker D, Karádi I, Prohászka Z, Garred P, Merkely B: Complement activation and its prognostic role in post-cardiac arrest patients. *Scand J Immunol*; 79(6): 404-9, 2014 IF: 1.739
55. Kosztin A, Kutyifa V, Nagy K V, Geller L, Zima E, Molnar L, Szilagyi S, Ozcan E E, Szeplaki G, Merkely B: Larger interventricular lead distance at implantation is associated with improvement in biomarkers, ejection fraction and clinical outcome in crt patients. *Eur Heart J*; 35: 86-87, 2014
56. Liptai M Cs, Perge P, Schneider Á, Nagy K V, Kosztin A, Gellér L, Apor A, Széplaki G, Merkely B: A mitrális regurgitáció jelentősége a kardiális reszinkronizációs terápia hatékonyságában (közép- és hosszú távú eredmények). *Cardiol Hung*; (Suppl. E): 106, 2014
57. Ozcan EE, Széplaki G, Tahin T, Osztheimer I, Szilagyi S, Apor A, Horvath PM, Vago H, Merkely B, Geller L: Impact of respiration gating on image integration guided atrial fibrillation ablation. *Clin Res Cardiol*; 103(9):727-31, 2014 IF: 4.560
58. Perge P, Liptai Cs, Schneider Á, Apor A, Gellér L, Molnár L, Zima E, Széplaki G, Merkely B: A reszinkronizációs terápia hatása a különböző mechanizmussal létrejövő funkcionális mitrális regurgitációra. *Cardiol Hung*; 44 (Suppl. E): 107, 2014
59. Perge P, Kovács A, Liptai Cs, Apor A, Nagy KV, Gellér L, Széplaki G, Merkely B: The effect of cardiac resynchronization therapy on mitral regurgitation of different pathomechanisms. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*; 15(S2): ii20/P164, 2014
60. Széplaki G, Özcan EE, Osztheimer I, Tahin T, Merkely B, Gellér L: Ablation of the epicardial substrate in the RVOT in a patient with Brugada syndrome refusing implantable cardioverter defibrillator therapy. *Can J Cardiol*; 30(10): 1249.e9.-1249.e11, 2014 IF: 3.711

61. Szilágyi Sz, Merkely B, Molnár L, Tahin T, Osztheimer I, Zima E, Széplaki G, Gellér L: Transseptalis endocardialis bal kamrai elektróda beültetés a vena subclavia felől végzett transseptalis punkcióval. *Cardiol Hung*; 44 (Suppl. E): 14, 2014
62. Boros AM, Széplaki G, Perge P, Jenei Z, Bagyura Z, Zima E, Molnár L, Apor A, Becker D, Gellér L, Prohászka Z, Merkely B: The ratio of the neutrophil leucocytes to the lymphocytes predicts the outcome after cardiac resynchronization therapy. *Europace* [Epub ahead of print 2015 May 12], 2015 IF: 4.021
63. Kosztin A, Kuttyifa V, Nagy KV, Gellér L, Zima E, Molnár L, Szilágyi Sz, Özcan EE, Széplaki G, Merkely B: Longer right to left ventricular activation delay at cardiac resynchroniztion therapy implantation is associated with improved clinical outcome in left bundle branch blockade. *Europace* [Epub ahead of print 2015 Jun 27], 2015 IF: 4.021
64. Nagy VK, Széplaki G, Apor A, Kuttyifa V, Kovács A, Kosztin A, Becker D, Boros AM, Gellér L, Merkely B: Role of right ventricular global longitudinal strain in predicting early and long-term mortality in cardiac resynchronization therapy patients. *PLoS One*; 10(12): e0143907, 2015 IF: 3.057
65. Özcan EE, Öztürk A, Özel E, Senarslan Ö, Uyar S, Tastan A, Szeplaki G, Tahin T, Merkely B, Gellér L: Left ventricle pacing polarity during cardiac resynchronization therapy significantly affects repolarization patterns regardless of pacing site. *Heart Rhythm*; 12(5Suppl): S305-306, (PO 03-188), 2015
66. Özcan EE, Szilagyi S, Sallo Z, Molnar L, Zima E, Szeplaki G, Osztheimer I, Öztürk A, Merkely B, Geller L: Comparison of the effects of epicardial and endocardial cardiac resynchronization therapy on transmural dispersion of repolarization. *PACE* [Epub ahead of print 2015 Jun 10], 2015 IF: 1.156
67. Szegedi N, Szeplaki G, Merkely B, Geller L: Successful emergency ablation of ventricular tachycardia in the early postoperative period after left ventricular assist device implantation. *Clin Res Cardiol*; 104(5): 450-452, 2015 IF: 4.324
68. Szeplaki G, Boros AM, Perge P, Jenei ZS, Zima E, Molnar L, Szilagyi Sz, Prohaszka Z, Geller L, Merkely B: Red cell distribution width is superior to the NT-proBNP in the survival prediction of chronic heart failure patients with cardiac resynchronization therapy. *Europace*; 17 (Suppl 3): iii151, 2015
69. Széplaki G, Perge P, Boros A, Nagy KV, Szilagyi Sz, Molnár L, Tahin T, Zima E, Gellér L, Merkely B: Elevated carbonhydrate antigen 125 (CA-125) predicts poor prognosis in cardiac resynchronization therapy of chronic heart failure patients. *Eur Heart J*; 36(Suppl.): 53, 2015
70. Szeplaki G, Szegedi N, Tahin T, Merkely B, Geller L: Successful catheter ablation of right atrial tachycardia after bilateral lung transplantation. *Transplantation*; 99(8): e115-116, 2015 IF: 3.690
71. Boros AM, Perge P, Jenei Z, Karády J, Zima E, Molnár L, Becker D, Gellér L, Prohászka Z, Merkely B, Széplaki G: Measurement of the Red Blood Cell Distribution Width Improves the Risk Prediction in Cardiac Resynchronization Therapy. *Dis Markers*; Article ID 7304538, 2016 IF: 2.137
72. Kosztin A, Széplaki G, Kovács A, Földes G, Szokodi I, Nagy KV, Kuttyifa V, Fórizs É, Végh EM, Gellér L, Becker D, Aradi D, Merkely B: Impact of CT-apelin and NT-proBNP on identifying non-responders to cardiac resynchronization therapy. *Biomarkers*; 12: 1-8, 2016 IF: 2.016

73. Nagy KV, Széplaki G, Boros AM, Perge P, Molnár L, Szilágyi Sz, Karády J, Apor A, Zima E, Gellér L, Merkely B: Az EuroQol-5D kérdőív segítségével meghatározott életminőség mortalitást előrejelző szerepe CRT beültetésén átesett betegek körében. *Card Hung*; 46: F107, 2016
74. Nagy VK, Szeplaki G, Koszitin A, Boros AM, Perge P, Molnar L, Szilagyi Sz, Apor A, Zima E, Geller L, Merkely B: Quality of life measured with EuroQol-5D questionnaire predicts long term mortality and echocardiographic response in CRT patients. *Global Heart*; 11(Suppl.2): e90, 2016
75. Perge P, Boros A, Szilágyi Sz, Osztheimer I, Fórizs É, Molnár L, Zima E, Gellér L, Merkely B, Széplaki G: A D-vitamin-hiány előrejelzi a kedvezőtlen klinikai választ reszinkronizációs terápiában részesülő szívelégtelen betegekben. *Card Hung*; 46: F108, 2016
76. Perge P, Boros AM, Fórizs E, Szilagyi S, Osztheimer I, Zima E, Molnár L, Gellér L, Merkely B, Széplaki G: Assessing the value of novel biomarkers in predicting clinical outcomes after cardiac resynchronization therapy. *Europace*; 18(Suppl.1): i19, 2016
77. Perge P, Boros AM, Geller L, Molnar L, Zima E, Forizs E, Merkely B, Szeplaki G: Prognostic value of novel heart failure biomarkers in patients undergoing cardiac resynchronization therapy. *Eur Heart J*; 37(Suppl): 1289, 2016
78. Perge P, Boros AM, Szilágyi Sz, Zima E, Molnár L, Gellér L, Prohászka Z, Merkely B, Széplaki G: Novel biomarkers in cardiac resynchronization therapy: Hepatocyte growth factor is an independent predictor of clinical outcome. *Am Heart J* (bíráló alatt), 2016
79. Szegedi N, Gellér L, Tahin T, Merkely B, Széplaki G: Rivaroxabankezelés mellett kialakult bal pitvari fülcséthrombus sikeres kezelése direkt trombininhibitorral. *Orv Hetil*; 157(4): 154-6, 2016
80. Széplaki G, Boros AM, Szilágyi Sz, Osztheimer I, Jenei Zs, Koszitin A, Nagy KV, Karády J, Molnár L, Tahin T, Zima E, Gellér L, Prohászka Z, Merkely B: Complement C3a predicts outcome in cardiac resynchronization therapy of heart failure. *Inflamm Res*; 2016 IF: 2.557
81. Széplaki G, Gellér L, Özcan EE, Tahin T, Kovács OM, Parázs N, Karády J, Maurovich-Horvat P, Szilágyi S, Osztheimer I, Tóth A, Merkely B: Respiratory gating algorithm helps to reconstruct more accurate electroanatomical maps during atrial fibrillation ablation performed under spontaneous respiration. *J Interv Card Electrophysiol*; 46(2): 153-9, 2016 IF: 1.676
82. Bagyura Z, Kiss L, Edes E, Lux A, Polgár L, Soós P, Szenczi O, Szelid Z, Vadas R, Józán P, Bagdy G, Merkely B: Cardiovascular szűrőprogram a közép-magyarországi régióban. *Budakalás vizsgálat. Orv Hetil*; 155(34): 1344-52, 2014
83. Kiss LZs, Bagyura Zs, Vadas R, Polgár L, Szenczi O, Soós P, Szelid Zs, Merkely B: A szubklinikus atherosclerosis és a 2-es típusú diabetes rizikó kapcsolatának vizsgálata egy közép-európai cardiovascularis szűrőprogram résztvevői körében. *Cardiol Hung*; 44(Suppl E): E86-87, 2014

84. Bartykowszki A, Drobni ZD, Panajotu A, Celeng C, Suhai F, Jermendy AL, Csobay-Novák Cs, Merkely B, Maurovich-Horvat P: Evaluation of coronary status with 256-slice computed tomography in heart transplant recipients. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*; 15(S2): ii43/P810, 2014
85. Bartykowszki A; Drobni Zs; Balogh O; Becker D; Szabolcs Z; Balázs Gy; Szidonya L; Maurovich-Horvat P; Merkely B: Szívtranszplantált betegek koronária-státuszának követése koronária-CT-angiográfiával - első tapasztalatok. *Cardiol Hung*; 44(Suppl E): E118, 2014
86. Simon A, Benkő R, Szabó G, Oláh A, Nagy KV, Mátyás C, Hajas Á, Kosztin A, Pólos M, Hartyánszky I, Zima E, Radovits T, Merkely B, Horváth EM: Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) activation in chronic heart failure correlates with the level of cardiac dysfunction. *Acta Physiol (Oxf)*; 211 (Suppl. 697): 83, 2014
87. Hartyánszky I, Tóth A, Berta B, Pólos M, Veres G, Merkely B, Szabolcs Z, Pepper J.: Personalized surgical repair of left ventricular aneurysm with computer-assisted ventricular engineering. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*; 19(5): 809-814, 2014 IF: 1.155
88. Merkely B: Bővülő indikációk a szívelégtelenség reszinkronizációs kezelésében, hazai tapasztalatok és lehetőségek. *Cardiol Hung*; 42(3): 147-54, 2012
89. Arribas F, Auricchio A, Wolpert C, Merkely B, Merino JL, Boriani G, Van Der Velde E, Camm J, Vardas P: The EHRA White Book. *Europace*; 14(Suppl 3): iii1-iii5, 2013 IF: 3.050
90. Földes G, Mioulane M: Differentiation and use of cardiomyocytes derived from human pluripotent stem cells. pp 71-81., In: Hayat MA (ed): *Stem Cells and Cancer Stem Cells 9. Therapeutic Application in Disease and Injury*. Springer Science and Business Media. Dordrecht, 2013
91. Földes G, Mioulane M: High content imaging and analysis of pluripotent stem cell derivatives. pp 29-39., In: Turksen K (ed): *Imaging and Tracking Stem Cells. Methods and Protocols*. Humana Press, 2013
92. Maggioni AP, Anker SD, Dahlström U, Filippatos G, Ponikowski P, Zannad F, Amir O, Chioncel O, Leiro MC, Drozd J, Erglis A, Fazlibegovic E, Fonseca C, Fruhwald F, Gatzov P, Goncalvesova E, Hassanein M, Hradec J, Kavoliuniene A, Lainscak M, Logeart D, Merkely B, Metra M, Persson H, Seferovic P, Temizhan A, Tousoulis D, Tavazzi L on behalf of the Heart Failure Association of the ESC (HFA): Are hospitalized or ambulatory patients with heart failure treated in accordance with European Society of Cardiology guidelines? Evidence from 12 440 patients of the ESC, *Eur J Heart Fail*; 15(10):1173-84, 2013 IF: 6.577
93. Merkely B, Kutyifa V, Bógyi P, Kosztin A, Nagy KV, Molnár L, Szilágyi Sz, Zima E, Gellér L: CRT-D. vs. CRT-P implantáció mortalitásra gyakorolt hatása krónikus szívelégtelen betegekben - nagy betegszámú, egy centrumos vizsgálat, *Cardiol Hung* ; 44(Suppl E): E106-107, 2014
94. Kosztin A, Gara E, Harding SE, Földes G: Stem Cell Therapy to Treat Heart Failure, In: Caplan M (ed): *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier, London, 2015
95. Szegedi N, Széplaki G, Kovács A, Nagy KV, Németh T, Kutyifa V, Molnár L, Osztheimer I, Zima E, Szilágyi Sz, Özcan EE, Gellér L, Merkely B: Reszinkronizációs terápia – Primer implantáció és upgrade.,

Cardiol Hung; 45(1): 13-19, 2015

96. Földes G, Harding SE, Lyon AR: The Failing Cardiomyocyte. In: Oxford Textbook of Heart Failure 2ed, Oxford University Press (megjelenés alatt), 2016

97. Kriston-Vizi J, Harding SE, Földes G: 2.4. Structural Toxicity / 2.4.2. Hypertrophy. In: Stem Cell-Derived Models in Toxicity, Springer (megjelenés alatt), 2016