

**ANTIARITMIÁS SZEREK CELLULÁRIS
ELEKTROFIZIOLÓGIAI HATÁSAI**

PhD értekezés tézisei

Dr. Takács János

Kardiológiai Osztály,
Karolina Kórház, Mosonmagyaróvár

és

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet,
Szegedi Tudományegyetem,
Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Centrum
Szeged

2003

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	3
1.1. Célkitűzések	4
2. ANYAG ÉS MÓDSZER	4
2.1. Konvencionális mikroelektród technika	4
2.2. Patch-clamp technika	4
2.3. Vizsgált szerek	5
2.4. Statisztikai értékelés	5
3. EREDMÉNYEK	5
3.1. A dronedaron és az amiodaron hatásai	5
3.2. Az azimilid hatásai	7
3.2. A 3,8-diazabicyclo-[3.2.1] octane derivátumok hatásai	8
4. MEGBESZÉLÉS	8
4.1. A dronedaron hatásai	8
4.2. Az azimilid hatásai	10
4.3. A 3,8-diazabicyclo-[3.2.1]-octane derivátumok hatásai	10
5. ÖSSZEGZÉS: KÖVETKEZTETÉS ÉS POTENCIÁLIS JELENTŐSÉG	11
6. A TÉMÁHOZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK	12
7. IRODALOM	12
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	15

1. Bevezetés

A modern antiaritmiás szerek sok beteg életminőségét javíthatják, de nem képesek szignifikánsan csökkenteni a hirtelen szívhalállal összefüggő mortalitást. Ezen kívül hasznavehetőségüket inefektivitásuk és/vagy toxicitásuk is korlátozza. A CAST (1) és a SWORD (2) vizsgálat rámutatott, hogy számos nátriumcsatorna blokkoló (I/C osztályba sorolható antiaritmiás szer), mint amilyen a flekainid és enkainid, valamint a „tisztá” III-as osztályú d-sotalol szignifikánsan növeli a posztinfarktusos mortalitással összefüggő proaritmiát. Az antiaritmiás kezelés ezen kudarcai az amiodaron, egy különösen hatékony antiaritmiás szer (3) felé terelték az érdeklődést, ugyanis bizonyos multicentrikus klinikai vizsgálatokban az amiodaron a flekainiddel és d-sotalollal szemben nem növelte (4), sőt inkább csökkentette (5) a posztinfarktusos mortalitást. Az amiodaron összetett hatással rendelkezik: „use-dependens” módon blokkolja a nátrium-, (6,7,8) és kalciumáramot (9), blokkolja az alfa-, és béta receptorokat (10). Mindemellett az amiodaron viszonylag sok extrakardiális mellékhatással (11) is rendelkezik, ami a kémiai struktúrájában szereplő jódnak tulajdonítható. Mindezek miatt kifejlesztették és preklinikai vizsgálatokban tesztelték (12,13,14,15,16) az amiodaron jódmentes tartalmazó benzofuran analógját, a dronedaront (SR 33589).

A jelenleg rendelkezésre álló III-as osztályú antiaritmiás szerek, mint amilyen a d-sotalol, E-4031 és dofetilid, hatásosan gátolják a késői egyenirányító káliumáramot (I_{Kr}), ezáltal nyújtják az akciós potenciált (17). A kamrai szívdizom késői egyenirányító káliumáramát két, egy gyorsan (I_{Kr}) és egy lassan (I_{Ks}) aktiválódó komponens alkotja (18,19,20,21,22). A legtöbb III-as osztályú szer a gyors komponens szelektív gátlásával fejt ki hatását, ezáltal a repolarizációs periódus hosszabb lesz. Ezek a szerek alacsonyabb stimulációs frekvenciánál általában jobban megnyújtják az akciós potenciált, mint magasabb ingerlésnél – ez az úgynevezett fordított frekvenciafüggő („reverz use-dependens”) hatás (23). Ez egyrészt a repolarizáció inhomogenitását okozhatja, másrészt a repolarizáció befejeződése előtt egy új depolarizációs hullámot, egy úgynevezett korai utódepolarizációt (EAD) válthat ki. A legtöbb III-as osztályú szer (d-sotalol, dofetilid, E-4031) methansulphonanilid vegyület, ami szelektíven blokkolja az I_{Kr} csatornát. Ezzel szemben az azimilid (NE-10064) egy chlorophenylfuranyl vegyület, mely terápiás koncentrációban egyaránt blokkolja az I_{Kr} -t és I_{Ks} -t, magasabb koncentrációban pedig egyéb ionáramokat és receptorokat is befolyásol (24,25). Meggyőző klinikai vizsgálatok támasztják alá az azimilid hatékonyságát (ASAP – Azimilide Supraventricular Arrhythmia Program – 26,27; ALIVE – Azimilide Post-Infarct Survival Evaluation trial – 28,29).

Irodalmi adatok alapján az ambasilid, egy jellegzetes III-as osztályú antiaritmiás szer, más III-as osztályú szerekhez (31) képest kevésbé okoz fordított frekvenciafüggő APD megnyúlást (30). Ezért jelen munka egyik célja új frekvenciától független APD nyújtó hatású ambasilid analóg vegyületek tervezése és szintetizálása volt: ezek a vegyületek feltehetően kedvezőbb antiaritmiás aktivitással rendelkeznek.

1.1. Célkitűzések

- 1) A dronedaron, egy új, jódot nem tartalmazó amiodaron analóg krónikus és akut hatásának amiodaronnal történő összehasonlító vizsgálata kutyaszív papilláris izmán, Purkinje rostjain és izolált kamrai szívizomsejtjein.
- 2) Az azimilid celluláris elektrofiziológiai hatásainak vizsgálata:
 - (a) a szer kutyaszív papilláris izmáról és Purkinje rostjairól elvezetett akciós potenciálokra kifejtett hatása.
 - (b) kutyaszív izolált kamrai szívizomsejtjein a különböző transzmembrán ionáramoka, mint a késői egyenirányító káliumáram gyors és lassú komponensére, a befelé egyenirányító káliumáramra, a tranziens kifelé irányuló káliumáramra, az L-típusú kalciumáramra kifejtett hatása.
- 3) Az újonnan szintetizált ambasilid analóg 3,8-diazabicyclo-[3.2.1]-octane derivátumok akciós potenciálra és effektív refrakter periódusra kifejtett hatásainak vizsgálata.

2. Anyag és módszer

2.1. Konvencionális mikroelektrod technika

Mindkét nembeli túllaltatott (nátrium pentobarbital, 30 mg/kg *i.v.*) felnőtt korcs kutyák (8-16 kg) szívét jobb oldali laterális torakotómia alkalmazásával távolítottuk el. A jobb kamrai papilláris izom és Purkinje rost transzmembrán potenciáljait konvencionális mikroelektrod technika alkalmazásával 37 °C-on rögzítettük.

A maximális diasztolés potenciált (papilláris izmon nyugalmi potenciál [RP], Purkinje roston maximális diasztolés potenciál [MP]), az akciós potenciál amplitúdóját (APA), az ingerületvezetési időt (CT), az akciós potenciál időtartamát (APD) 50 és 90%-os repolarizációnál (APD₅₀₋₉₀) mértük. Folyamatos, 1000 ms-os ciklushosszú (frekvencia=1 Hz; Purkinje rostok esetén 2 Hz) ingerlést követően, majd az ingerlési ciklushossz lépcsőzetes (300-5000 ms) változtatása után elsőként a kiindulási akciós potenciál karakterisztikát határoztuk meg. A preparátumokon ezután 30-60 percen keresztül a vizsgált szereket áramoltattuk át majd megismételtük az ingerlési eljárást és a paraméterek mérését.

A V_{max} inaktivációból történő helyreállási kinetikáját („recovery kinetika”) extrastimulusok alkalmazásával határoztuk meg: az alapingerlés (S_1) negyvenedik ütését követően extrastimulust (S_2) alkalmaztunk úgy, hogy a refrakter periódus végétől az S_1 - S_2 kuplung intervallumot fokozatosan növeltük. A vizsgált akciós potenciált megelőző diasztolés intervallumot a megelőző alapütés 90%-os repolarizációt elérő pontjától mértük és -10 ms-tól lépcsőzetesen 60000 ms-ig növeltük. A frekvenciafüggő V_{max} blokk kialakulását kamrai izmon 60 másodperces nyugalmi periódus után 400 ms-os ciklushosszú, 40 ütésből álló ingerlés alkalmazásával vizsgáltuk.

2.2. Patch-clamp technika

Mindkét nembeli, 10-20 kg testsúlyú korcs kutyák kamrai szívizomsejtjeit enzimatikus úton választottuk el túllaltatást (nátrium pentobarbital, 30 mg/kg *i.v.*) követően, mint ahogy azt korábban részleteztük (32). A membránáramokat 37 °C-on egészséjtes („whole-cell”) konfigurációjú patch-clamp technika alkalmazásával

rögzítettük. Csak pálca alakú, tisztán barázdált sejteket használtunk. Káliumáramok mérése esetén a befelé irányuló kalciumáram (I_{Ca}) kiküszöbölése érdekében a külső oldat nisoldipint (1 μ M) tartalmazott. A késői egyenirányító káliumáram gyors (I_{Kr}) és lassú (I_{Ks}) komponensét a szelektív I_{Kr} csatorna blokkoló E-4031 (1 μ M), illetve az I_{Ks} blokkoló chromanol 293B (30 μ M) segítségével különítettük el.

2.3. Vizsgált szerek

Az amiodaron és dronedaron 100%-os DMSO-t tartalmazó 10 mM-os törzsoldatból készült. Az azimilide (NE-10064, Procter & Gamble Pharmaceuticals, USA) 50% DMSO-t tartalmazó 1 mM-os, vagy 10 mM-os törzsoldatból készült és a konvencionális mikroelektrod technikához 0,3, 3,0, illetve 10,0 μ M-os koncentrációt használtunk. A 3,8-diazabicyclo-[3.2.1]-octane vegyületeket DMSO-ban oldva 10 mM-os törzsoldat alkalmazásával a szervfűrdőben hígítottuk a kívánt koncentráció eléréséig.

Krónikus kezelés esetén naponta 50 mg/kg amiodaron, illetve 2x25 mg/kg dronedaron orális adásával kezeltük a kutyákat 4 héten keresztül. A kontroll csoport hasonló körülmények között tartott, gyógyszeres kezelésben nem részesült kutyákból állt.

2.4. Statisztikai értékelés

Az adatok (átlag \pm SEM) statisztikai elemzése egy-, és kétmintás Student féle *t*-próbával történt. A különbséget akkor tekintettük statisztikailag szignifikánsnak, ha a *P* értéke kisebb volt, mint 0.05.

A kontroll csoportban egy-, a kezelt csoportban kétexponenciális egyenlet segítségével számítottuk ki a V_{max} blokk helyreállási kinetikáját. Az egyedi diasztolés intervallumhoz tartozó V_{max} értéket ($V_{max,t}$) a leghosszabb diasztolés intervallum során észlelt plató értékkel ($V_{max,pl}$) hasonlítottuk össze. Az időállandót (τ) exponenciális egyenletekkel becsültük meg. A kontroll csoportnál egyexponenciális egyenlet ($V_{max,t} = V_{max,pl} + V_{max,A} * e^{(-t/\tau)}$), a kezelt csoportnál pedig kétexponenciális egyenlet ($V_{max,t} = V_{max,pl} + V_{max,Af} * e^{(-t/\tau_f)} + V_{max,As} * e^{(-t/\tau_s)}$) alkalmaztunk, melynek során *t* a diasztolés intervallumot, τ az időállandót (τ_f a gyors, τ_s a lassú komponensét), $V_{max,A}$ a növekményt ($V_{max,Af}$ a gyors és $V_{max,As}$ a lassú komponensét) jelenti.

3. Eredmények

3.1. A dronedaron és az amiodaron hatásai

Krónikus dronedaronkezelés az amiodaron krónikus adásával ellentétben nem okozott az EKG-n szignifikáns QRS és QTc időtartam növekedést és papilláris izmon sem nyújtotta meg jelentősen az APD-t. Krónikus dronedaronkezelést követően a PQ időtartam, a szinuszciklushossz (CL) és QT intervallum szignifikánsan megnyúlt.

A krónikus dronedaronterápia a maximális diasztolés potenciál (MP) kismértékű csökkenését leszámítva nem változtatta meg az akciós potenciál paramétereit papilláris izomban és Purkinje rostokban. Dronedaron krónikus alkalmazása csekély, de szignifikáns V_{max} blokkot okozott, míg krónikus amiodaronkezelést követően jelentős „use-dependens” V_{max} depressziót lehetett megfigyelni. Purkinje rostokban az MDP-t

(mely kissé negatívabb volt az amiodaronnal kezelt csoportban) leszámítva egyik akciós potenciál paraméter sem különbözött a kontroll csoporttól.

Papilláris izomban a kontroll csoporthoz képest a krónikus dronedaronkezelés fiziológiás ciklushosszú ingerlésnél nem változtatta meg szignifikánsan az APD-t, de lassú ciklushossz (1500-2000) alkalmazása esetén az APD hosszabb volt. Ezzel szemben krónikus amiodaronkezelés hatására az APD minden ciklushossznál szignifikánsan hosszabb volt, mint a kontroll csoport paramétere. Papilláris izomban a krónikus dronedaronterápia kontrollal összehasonlítva gyenge, de szignifikáns V_{max} csökkenést okozott 1000 ms-nál rövidebb ingerlés esetén. A krónikus amiodaronkezelés azonban markáns, szignifikáns frekvenciafüggő V_{max} depressziót okozott főként 1000 ms-os ciklushossznál rövidebb ingerlésnél. A dronedaronnal, illetve amiodaronnal kezelt kutyák Purkinje rostjainak APD értékei nem különböztek szignifikánsan a kezeletlen állatok paramétereitől. A krónikus amiodaronnal kezelt Purkinje rostok V_{max} értékei a kontrollhoz képest szignifikánsan alacsonyabbak voltak és ez leginkább 1000 ms-nál rövidebb ciklushosszú ingerlésnél mutatkozott. A dronedaronnal kezelt Purkinje rostokban ilyen szembeötlő változás nem volt megfigyelhető.

Az offset („recovery”) és onset kinetika alkalmazásával vizsgáltuk papilláris izomban a krónikus amiodaron-, és dronedaronkezelés utáni „use-dependens” V_{max} blokkot. A kezeletlen és a krónikus dronedaronnal kezelt csoport papilláris izmában a V_{max} 30-50 ms-os diasztolés intervallumot követően majdnem teljesen helyreállt. Krónikus amiodaronnal kezelt állatok papilláris izmában a V_{max} helyreállása jelentősen késett. A V_{max} helyreállását 549.6±43.4 ms-os (n=5) időállandóval lehetett jellemezni. Krónikus dronedaronnal kezelt preparátumokban a kezeletlen csoporthoz hasonlóan az ingerlés alatt csak mérsékelt és viszonylag lassú V_{max} csökkenést lehetett észlelni, amihez egyexponenciális egyenletet lehetett illeszteni (dronedaron: 8.9±0.5 ütés [n=19]; kontroll: 10.9±0.7 ütés [n=17]). Papilláris izomban a krónikus amiodaronkezelés viszont jelentős V_{max} változást okozott. A V_{max} blokk onset kinetikáját legjobban kétexponenciális egyenlettel lehetett jellemezni. A lassú (17.0±3.9 ütés, n=4) mellett egy másik, viszonylag nagy amplitúdójú gyors komponens (1.56±0.13 ütés, n=4) lehetett meghatározni.

Dronedaron és amiodaron akut alkalmazása papilláris izomban 1000 ms-os ciklushosszú ingerlésnél nagyon hasonló eredménnyel járt. Mindazonáltal a dronedaron és amiodaron feltehetően az I/B típusú nátriumcsatorna blokkoló aktivitásának köszönhetően mérsékelt, de statisztikailag szignifikáns „use-dependens” V_{max} csökkenést okozott 1000 ms-nál rövidebb ciklushosszú ingerlésnél mind papilláris izomban, mind Purkinje rostokban. Kutyaszív jobb kamrai papilláris izmában 10 μ M dronedaron és 10 μ M amiodaron csak mérsékelt repolarizációnyúlást okozott, Purkinje rostokban a dronedaron és amiodaron akut adása viszont az MDP, vagy APA jelentős változása nélkül szignifikánsan csökkentette az APD₅₀-nel és APD₉₀-nel jellemzett repolarizációt és különböző mértékben csökkentette a V_{max} -ot.

Dronedaron és amiodaron akut alkalmazásának a korai utódepolarizációra (EAD), valamint a késői utódepolarizációra (DAD) kifejtett hatásait vizsgáltuk kutyák bal kamrai Purkinje rostjain. 1 μ M dofetilid 20-40 perces alkalmazásával EAD-ot lehetett kiváltani. Dronedaron (10 μ M) és amiodaron (10 μ M) jelenlétében az EAD-ot mutató akciós potenciálok előfordulási aránya dronedaron esetében 77.8±3.8%-ról

11.7±2.8%-ra (n=6; P<0.05), amiodaron alkalmazásánál 58.6±4.5%-ról 8.0±3.2%-ra (n=5; P<0.05) csökkent. DAD-ot 2 Hz-es ingerlés utáni két perces ingerlésmentes periódusok közbeiktatásával próbáltunk kiváltani. Ouabain hiányában a stimuláció befejeztével DAD-ot nem lehetett kiváltani, viszont 0.2–0.3 μ M ouabain 40–60 perces alkalmazása esetén a stimuláció megszüntetését követően 4.7-től 3.7 mV-ig terjedő amplitúdójú DAD-okat lehetett kiváltani. A DAD-ok kiváltása után a preparátumokat 30-40 percig 10 μ M dronedaronnal, vagy 10 μ M amiodaronnal áramoltattuk át. Mind a dronedaron, mind az amiodaron megszüntette, vagy szignifikánsan csökkentette az ouabain által kiváltott DAD-ok amplitúdóját (dronedaron esetében 10.2±0.4 mV-ról 1.8±0.6 mV-ra [n=5; P<0.05]; amiodaron esetében 11.1±0.7 mV-ról 2.4±0.5 mV-ra [n=5; P<0.05]).

Patch-clamp kísérletek során kamrai miocitákban 1 μ M dronedaron jelentősen csökkentette az L-típusú kalciumáramot (I_{Ca}) és a késői egyenirányító káliumáram gyors komponensét (I_{Kr}). Ezzel szemben 10 μ M dronedaron nem befolyásolta számottevően, vagy szignifikánsan a tranziens kifelé irányuló káliumáram (I_{to}) amplitúdóját, a befelé egyenirányító káliumáramot (I_{K1}) és a késői egyenirányító káliumáram lassú komponensét (I_{Ks}).

3.2. Az azimilid hatásai

Papilláris izomban a szer mindhárom vizsgált koncentrációban (0.3, 3.0, 10.0 μ M) szignifikánsan nyújtotta az APD₉₀-et és APD₅₀-et. 3 μ M azimilid jelenlétében az APA csökkent, a CT növekedett. Az azimilid legnagyobb koncentrációja (10 μ M) esetén a V_{max} szignifikánsan csökkent. Purkinje rostokban a szer mindegyik koncentrációban szignifikánsan növelte az APD₉₀-et, de az APD₅₀ csak a legmagasabb koncentrációban csökkent. A plató fázis feszültségszintje negatív irányba mozdult el. Az APA jelentősen csökkent 3 és 10 μ M azimilid alkalmazásánál. A V_{max} szignifikánsan csökkent a legmagasabb koncentrációnál, a CT pedig szignifikánsan megnyúlt 3 μ M azimilid adásakor.

Az azimilid (3 μ M) papilláris izomban és Purkinje rostokban egyaránt fordított frekvenciafüggő módon nyújtotta az APD-t. A szer APD-re kifejtett fordított frekvenciafüggő hatása sokkal kifejezettebb volt alacsony stimulációs frekvenciánál és Purkinje rostokban. Azimilid növekvő koncentrációját alkalmazva a V_{max} mind papilláris izomban, mind Purkinje rostokban frekvenciafüggő módon csökkent.

A V_{max} blokk offset és onset kinetikáját papilláris izomban 3 és 10 μ M azimilid esetén vizsgáltuk. A V_{max} inaktivációból történő teljes helyreállása több, mint 2 mp-ig tartott, amit a szer V_{max} recovery görbéje lassú komponensének 1754±267 ms-os (n=6) időállandójával jellemezhetünk. A V_{max} blokk onset kinetikáját 3 μ M azimilid esetén 5.1±0.4 ütésnek (n=6) találtuk.

Az azimilid ATP szenzitív K^+ -áramra kifejtett lehetséges hatását papilláris izomban az akciós potenciál hosszát csökkentő ATP szenzitív káliumcsatorna nyitó pinacidil (10 μ M) alkalmazásával vizsgáltuk. Az azimilid nem védte ki a pinacidil APD csökkentő hatását papilláris izomban, amiből azt a következtetést vontuk le, hogy a szer nem befolyásolja az ATP szenzitív K^+ -áramot.

Az azimilid (10 μ M) jelentősen csökkentette az I_{Ca} -t (az I_{Ca} csökkenés mértéke 57.5±4.0% volt). Az azimilid szignifikánsan csökkentette az I_{Ks} és I_{Kr} farokáram

amplitúdóját. Az I_{K_S} és I_{K_r} csökkenés mértéke $58.4 \pm 5.2\%$, illetve $70.4 \pm 5.3\%$ volt. Az EC_{50} becült értéke I_{K_S} esetén $0.59 \mu M$, I_{K_r} -nél $0.39 \mu M$ és I_{Ca} esetében $7.5 \mu M$ volt. Az azimilid magas koncentrációban ($10 \mu M$) sem befolyásolta a tranziens kifelé irányuló (I_{to}) és a befelé egyenirányító (I_{K1}) káliumáramot.

3.3. A 3,8-diazabicyclo-[3.2.1] octane derivátumok hatásai

Frekvenciától független APD nyújtó hatással rendelkező új ambasilid analóg vegyületek tervezését és szintetizálását követően az összes vizsgált szer (*2a-g, 3, 4 és a referenciaszerek: ambasilide, E-4031*), a 2g-t kivéve, úgy nyújtotta meg az effektív refrakter periódust (ERP), hogy az impulzusvezetési időt (ICT) nem, vagy csupán kismértékben változtatta meg *in vitro* extracelluláris elektrofiziológiai módszerek alkalmazásával kutyák jobb kamrai trabekuláris izomzatában. Ezek a változások arra utalnak, hogy ezek a vegyületek kutyaszív kamrájában repolarizációnyújtó hatással rendelkeznek. A vegyületek ATP szenzitív káliumáramra kifejtett esetleges hatását extracelluláris *in vitro* elektrofiziológiai technika segítségével, az ATP szenzitív káliumcsatorna nyitó, vagyis a repolarizációt és ezáltal az ERP-t csökkentő cromakalim ($2 \mu M - 33$) alkalmazásával, a szer adása előtti és utáni ERP mérésével tanulmányoztuk. A vizsgált vegyületek közül a *2a, 2e és 2f* szignifikánsan mérsékelte a cromakalim indukálta ERP csökkenést, ami arra utal, hogy ezek a vegyületek bizonyos mértékben gátolhatják az ATP szenzitív káliumáramot.

A referenciaszerek (*ambasilide, E-4031*) és a *2a, b, d, g, 4* vegyületek akciós potenciál paramétereire kifejtett hatását kutyaszív jobb kamrai papilláris izmán tanulmányoztuk konvencionális mikroelektrod technika segítségével. A vegyületek közül a *2b, 2d és 4* az akciós potenciál amplitúdójának (APA) és a depolarizáció maximális sebességének (V_{max}) lényegi befolyásolása nélkül nyújtotta meg az akciós potenciál időtartamát (APD), míg a *2a, 2e, 2f, 2g* nem befolyásolta ezen paramétereket. Az *E-4031* előnytelen, fordított frekvenciafüggő APD megnyúlást okozott, de *2b, 2d* és *ambasilid* alkalmazását követően a stimulációs frekvenciától független APD nyújtó hatást láttunk.

4. Megbeszélés

4.1. A dronedaron hatásai

Vizsgálatainkban amiodaron alkalmazásának akut és krónikus hatásai hasonlóak voltak a korábban már mások által publikáltakhoz (6,34,35,36). Vizsgálatunk azt mutatta, hogy a krónikus dronedaronkezelés nem nyújtotta a repolarizációt. Ez az eredmény egyezik mások eredményeivel (37,38,39).

Mindazonáltal *Sun és mtsai* (13) arról számoltak be, hogy krónikus dronedaronkezelés nyulakban a hosszan tartó amiodaronkezeléshez hasonló, vagy még kifejezettebb elektrofiziológiai hatásokat mutatott. Ezekre az eredményekre alapozva a szerzők arra a megállapításra jutottak, hogy az amiodaronszerű krónikus elektrofiziológiai hatásokhoz nem szükséges a jód jelenléte a kémiai struktúrában. Kutyákon nyert eredményeink ettől különböznek és következtetésünk ellentétes *Sun és mtsai* (13) következtetésével, mivel vizsgálatainkban a krónikus dronedaronkezelés nem okozott kifejezett amiodaronszerű elektrofiziológiai hatásokat. Ezért az adataink alapján

arra a korábbról már ismert következtetésre jutottunk, hogy a molekuláris struktúrában lévő jód feltehetően szükséges ahhoz, hogy jellegzetes amiodaronszerű elektrofiziológiai változások lépjenek fel. Ezen túl krónikus amiodaronkezelésnél erős „use-dependens” V_{max} blokkot találtunk, de ugyanezt dronedaronkezelésnél nem figyeltük meg. Ezzel szemben *Sun és mtsai* (13) krónikus dronedaronkezelést követően nagyobb (de láthatóan nem „use-dependens”) V_{max} csökkenést figyeltek meg, mint az amiodaronkezelés után.

Dronedaronnal kapott *in vivo* (EKG) eredményeink látszólag alátámasztják *Manning és mtsai* (14) kutyákon kapott eredményeit. Azt is kimutatták, hogy krónikus AV blokkban szenvedő altatott kutyák (40) *iv.* dronedaronkezelése kivédte az almokalant által kiváltott EAD-okat és torsade de pointes tachikardiát, ami egybevág *in vitro* kapott eredményeinkkel.

Másrészről viszont *in vitro* eredményeink jó egyezést mutatnak *Moro és mtsai* (12) eredményeivel, mivel mi is csak kismértékű „use-dependens” V_{max} blokkot találtunk dronedaron akut alkalmazásakor.

A krónikus dronedaronkezelés jelentős elektrofiziológiai hatásának hiánya fontos megfigyelés. Jelen tanulmányban a krónikus dronedaronkezelés hatására 1000 ms-nál hosszabb ingerlési ciklushossz esetén jobb kamrai papilláris izomban mérsékelt APD megnyúlást mutattunk ki. Jóval fiziológiásabb ingerlés alkalmazása esetén a krónikus dronedaronkezelés APD nyújtó hatása hiányzott, vagy csak nagyon kismértékű volt. *In vivo* EKG méréseknél, ahol a kutyák spontán ciklushossza 500 és 600 ms között volt, nem lehetett szignifikáns QTc megnyúlást találni. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy a dronedaron és amiodaron krónikus elektrofiziológiai hatásai között megfigyelt különbségek leginkább a dronedaron kémiai struktúrájából hiányzó jóddal magyarázhatók.

A dronedaron akut alkalmazása után az izolált kamrai miocitákon észlelt magasfokú I_{K_r} blokk alapján sokkal jelentősebb APD megnyúlást tételezhattunk fel. Nem tisztázott, hogy a dronedaron által kiváltott erős I_{K_r} blokk papilláris izomban miért nem járt kifejezett APD megnyúlással. Mindenesetre patch-clamp vizsgálatokban a szer diffúziója jobb, mint a konvencionális mikroelektrod technika esetében. Lehetséges ok lehet még, hogy a dronedaron az amiodaronhoz hasonlóan több támadásponttal rendelkezik, beleértve más ioncsatornákat is (41,42), mint amilyen az L-típusú kalcium (9), vagy a befelé irányuló nátriumcsatorna, melyek ellensúlyozhatják a depolarizáló áramokat, kiegyenlíthetik az I_{K_r} blokk APD-t megnyújtó hatását.

A dronedaron által kiváltott nátriumcsatorna blokk gyengébb, mint amelyet az amiodaron okoz, de ennek előnyös következménye is lehet. A dronedaron az amiodaronhoz hasonlóan és a „tisztá” I_{K_r} blokkoló d-sotalollal ellentétben csökkentheti a kamraizomzat és a Purkinje rostok közötti repolarizáció diszperzitását. Mivel a dronedaron által okozott nátriumcsatorna depresszió nem jelentős, nem okoz lényeges V_{max} blokkot és ingerületvezetésslassulást sem, ezért ezzel a szerrel a CAST típusú proaritmia képződésének valószínűsége sokkal kevésbé valószínű, mint más sokkal erősebb nátriumcsatorna blokkolóknál esetén, beleértve az amiodaront is. Továbbá, mivel a dronedaron által kiváltott DAD és EAD előfordulásának csökkenése és megszűnése a szer nátrium-, és főleg kalciumcsatorna gátlására vezethető vissza, hasonló érvekkel magyarázhatók a dronedaron DAD-ra és EAD-ra kifejtett kedvező hatásai, mivel ezeket az utódepolarizációkat elnyomják.

4.2. Az azimilid hatásai

Az azimilidet 0.1–30 μM -os koncentrációtartományban alkalmaztuk. Ezek a koncentrációk részben a terápiás tartományon belül vannak, részben azon kívül és egyrészt mások *in vitro* elektrofiziológiai vizsgálataiban is szerepelnek (24). Eredményeink jó összhangban vannak néhány szerző adataival (43,44,45,46), de különböznek *Qi és mtsai* (47,48), valamint *Restivo és mtsai* (49) eredményeitől, kik az azimilid APD nyújtó hatását frekvenciától függetlennek találták. Elsőként igazoltuk, hogy az azimilid (3-10 μM) papilláris izomban és Purkinje roston „use-dependens” módon csökkenti a V_{max} -ot. Ez egybevág néhány korábbi ismertetéssel, melyekben a szer Na^+ csatorna blokkoló hatását mutatták ki (46,50,51). A V_{max} blokk offset kinetikáját ugyancsak elsőként írtuk le ebben a munkában, amit az I/A és I/B osztály közötti kinetikával lehet leginkább jellemezni.

Vizsgálatunkban az azimilid korábbi ismertetésekhez (21,45,46,52) hasonlóan koncentrációtól függően blokkolta a késői egyenirányító káliumáram gyors és lassú komponensét. Tanulmányunkban az azimilid I_{Ca} -ra kifejtett hatása erősebb volt (I_{Ca} esetében az EC_{50} 7.5 μM), mint amit *Yao és mtsai* (az EC_{50} -et 17.8 μM -nak találták – 46) ismertették, melynek során az a következtetés vonható le, hogy ez a mellékes hatás lehet, hogy tetemesen hozzájárulhat a szer antiaritmiás profiljához. Azt a megfigyelésünket, hogy az azimilid nem védi ki a pinacidil repolarizációt csökkentő hatását még nem igazolták korábban és ez arra utal, hogy a szernek még magas koncentrációban (10 μM) sincs hatása az ATP szenzitív káliumáramra.

Jelen munkában papilláris izomban és Purkinje roston észlelt, azimilid által okozott fordított frekvenciafüggő APD nyújtó hatás kisebb mértékű volt, mint 300 nM dofetilid esetében. Az is fontos különbség, hogy a kamraizomzat és a Purkinje rostok repolarizációjának inhomogenitása enyhébb volt azimilid esetén, mint dofetilidnél. Ezt lehet, hogy az azimilid I_{Na} -t és I_{Ca} -t gátló hatása magyarázza. Hasonló mechanizmust mutattak ki amiodaronnal, ami megnyújtja a repolarizációt, de az azimilidhez hasonlóan gátolja az I_{Ca} -t és I_{Na} -t (53,54). Korábban azt is kimutatták, hogy a III-as osztályú szerek által okozott akciós potenciál megnyúlás fordított frekvenciafüggését egyidejűleg alkalmazott kalciumcsatorna antagonistákkal (55) és nátriumcsatorna blokkolókkal (30) csökkenteni lehet. Ezen kívül ezek a szerek gátolhatják az alacsony stimulációs frekvenciánál kialakuló gyógyszer által kiváltott utódepolarizációkat (30,56), így a torsade de pointes típusú polimorf kamrai aritmiák előfordulásának valószínűsége is csökkenhet. Ennek során az azimilid által kiváltott Na^+ -csatorna és L-típusú kalciumáram blokkolása kivédheti a káliumcsatorna blokádja általi repolarizáció megnyúlását Purkinje rostokban anélkül, hogy normál frekvenciánál jelentősen befolyásolná az ingerületvezetés sebességét, mint ahogy azt korábban az amiodaronnál megfigyelték (53). Az azimilid ezen komplex elektrofiziológiai hatása több esetben is az amiodaronhoz hasonlóan tűnik és megmagyarázhatja az azimilid alkalmazásakor észlelt alacsony proaritmiás hatásokat (29).

4.3. A 3,8-diazabicyclo-[3.2.1]-octane derivátumok hatásai

Az ambasilidről, egy diheterabicyclo-[3.3.1]-nonane III-as osztályú antiaritmiás szerről kimutatták, hogy gátolja az I_{Kr} -t és I_{Ks} -t (57). Habár az ambasilid kutyák Purkinje rostjain fordított „use-dependens” frekvenciafüggést okoz, a szer kutyák

szubendokardiumán az akciós potenciál időtartamát az ingerelt ciklushosszok széles skáláján képes nyújtani (58). A pitvarfibrilláció egyik kísérletes kutyamodelljén az ambasilidet sokkal erőteljesebb antiaritmiás hatásúnak találták, mint a d-sotalolt és kevésbé nyújtotta fordított „use-dependens” módon a refrakteritást, mint a d-sotalolt (59). *In vivo* vizsgálatok azt sugallják, hogy az amiodaron és az ambasilid kisebb mértékben okoz fordított „use-dependens” repolarizációmegnyúlást, mint a sokkal szelektívebb I_{Kr} blokkoló vegyületek (59,60).

3,8-diazabicyclo-[3.2.1]-octane hatással rendelkező ambasilid analóg vegyületeket vizsgáltunk azért, hogy III-as osztályú antiaritmiás hatásukat igazoljuk mind *in vitro* extracelluláris, mind konvencionális mikroelektrod technika segítségével. A vegyületek többsége az ingerületvezetési idő (ICT) szignifikáns növelése nélkül nyújtotta az effektív refrakter periódust (ERP). Ezen kívül az akciós potenciál időtartamát (APD) is megnyújtották, ami egy típusos III-as osztályú tulajdonság, de szignifikáns I-es osztályú antiaritmiás aktivitásukat nem lehetett igazolni.

5. Összegzés: következtetés és potenciális jelentőség

Ezen PhD tézis legfontosabb új megállapításai a következők:

- 1.) Krónikus kezelést követően a dronedaron az amiodaronnal ellentétben nem okoz jelentős repolarizációmegnyúlást kutyaszívizomban.
- 2.) Dronedaron akut adása az amiodaron akut alkalmazásához hasonlóan mérsékelten csökkenti a Purkinje rostok repolarizációját és csak kismértékben nyújtja azt kamraizomzatban. A dronedaron akut alkalmazása enyhe „use-dependens” V_{max} depressziót vált ki és erős I_{Ca} és I_{Kr} gátló hatásokkal rendelkezik. Dronedaron akut adása a triggerelt aritmigén automácia mindkét típusát gátolja (EAD és DAD).
- 3.) Az azimilid többféle elektrofiziológiai hatással is rendelkezik, melyek a következők; a) reverz frekvenciafüggő APD megnyúlás és „use-dependens” nátriumcsatorna blokk b) egyaránt gátolja a késői egyenirányító káliumáram gyors és lassú komponensét és gátolja a befelé irányuló kalciumáramot anélkül, hogy befolyásolná a befelé egyenirányító, a tranzien kifelé irányuló és az ATP-szenzitív káliumáramot.
- 4.) A referenciavegyület részét képező 3,7-diazabicyclo-[3.3.1]-nonane tulajdonság helyett felerészt 3,8-diazabicyclo-[3.2.1]-octane tulajdonsággal rendelkező új ambasilidanalóg vegyületek többsége az ingerületvezetési idő (ICT) szignifikáns növelése nélkül nyújtja az effektív refrakter periódust (ERP) és az akciós potenciál időtartamát (APD), ami egy típusos III-as osztályú tulajdonság, anélkül, hogy szignifikáns I-es osztályú antiaritmiás aktivitása lenne.

6. A doktori értekezés alapját képező publikációk jegyzéke

Közlemények

- I. **Takács János**, Lengyel Csaba, Varró András, Papp Gyula: A késői egyenirányító káliumáram gyors és lassú komponensét egyaránt gátló azimilide hatása kutyaszív kamrai munkaizom és Purkinje rostjaira. *Cardiologia Hungarica*, 4, 227-234, 2000.
 - II. András Varró, **János Takács**, Miklós Németh, Ottó Hála, László Virág, Norbert Iost, Beáta Baláti, Márta Ágoston, András Vereckei, Gilbert Pastor, Martine Delbruyère, Patrick Gautier, Dino Nisato, Julius Gy. Papp: Electrophysiological effects of dronedarone (SR 33589), a noniodinated amiodarone derivative in the canine heart: comparison with amiodarone. *British Journal of Pharmacology*, 133, 625-634, 2001. Impact factor (2001): 3.502
 - III. Stefania Villa, Daniela Barlocco, Giorgio Cignarella, Gyula Julius Papp, Beáta Baláti, **János Takács**, András Varró, András Borosy, Katalin Keserű, Péter Mátys: 3,8-Diazabicyclo-[3.2.1]-octane derivatives as analogues of ambasilide, a Class III antiarrhythmic agent. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 36, 495-506, 2001. Impact factor (2001): 1.077
 - IV. **János Takács**, Norbert Iost, Csaba Lengyel, László Virág, Momir Nestic, András Varró, Julius Gy. Papp: Multiple cellular electrophysiological effects of azimilide in canine cardiac preparations. *European Journal of Pharmacology*, 470, 163-170, 2003. Impact factor (2003): 2.164
- ### Előadáskivonatok
- V. András Varró, Miklós Németh, **János Takács**, Ottó Hála, Beáta Baláti, Julius Gy. Papp: Comparison of the cellular electrophysiological effects of amiodarone and dronedarone in canine ventricular muscle and Purkinje fibers. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 13 (Supplement 1), S25.4, 1999.
 - VI. **Takács János**, Varró András, Papp Gyula: Azimilide, egy új III. osztályú szer hatása kutyaszív kamrai munkaizom és Purkinje rostjaira. *Cardiologia Hungarica*, Supplement 4, 199 (Abstr.), 1999.
 - VII. **Takács János**, Varró András, Baláti Beáta, Németh Miklós, Hála Ottó, Papp Gyula: A krónikus desethylamiodaron kezelés hatása kutyaszívizomban. *Cardiologia Hungarica*, Supplement 2, 23 (Abstr.), 2001.
 - VIII. András Varró, **János Takács**, Beáta Baláti, Miklós Németh, Ottó Hála, Julius Gy. Papp: Long-term cardiac electrophysiological effect of desethylamiodarone in dog cardiac muscle. *European Heart Journal*, 22 (Abstract Supplement), 55 (Abstr. P415), 2001.
 - IX. Virág László, **Takács János**, Iost Norbert, Lengyel Csaba, Varró András, Papp Gyula: Az I_{Kr} és I_{Ks} gátló azimilid celluláris elektrofiziológiai vizsgálata kutyaszív preparátumokon. *Cardiologia Hungarica*, Supplement 2, 24 (Abstr.), 2001.

7. Felhasznált irodalom

1. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators: Preliminary report: effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction. *N Engl J Med*, 321, 406-412, 1989.
2. Waldo AL, Camm AJ, Deruyter H, Friedman PL, Macneil DJ, Pauls JF, Pitt B, Pratt CM, Schwartz PJ, Veltri EP: Effect of d-sotalol on mortality in patients with left ventricular dysfunction after recent and remote myocardial infarction. *Lancet*, 348, 7-12, 1996.
3. Link MS, Homoud M, Foote CB, Estes NAM: Antiarrhythmic drug therapy for ventricular arrhythmias: current perspectives. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 6, 880-886, 1995.
4. Julian DG, Camm AJ, Frangin G, Janse MJ, Munoz A, Schwartz PJ, Simon P: Randomised trial of effect of amiodarone on mortality in patients with left-ventricular dysfunction after recent myocardial infarction: EMIAT. European Myocardial Infarct Amiodarone Trial Investigators. *Lancet*, 349, 667-674, 1997.
5. Pfisterer M, Kiowski W, Burckhardt D, Follath F, Burkart F: Beneficial effect of amiodarone on cardiac mortality in patients with asymptomatic complex ventricular arrhythmias after acute myocardial infarction and preserved but not impaired left ventricular function. *Am J Cardiol*, 69, 1399-1402, 1992.
6. Mason JW, Hondeghem LM, Katzung B: Block of inactivated sodium channels and of depolarisation-induced automaticity in guinea pig papillary muscle by amiodarone. *Circ Res*, 55, 277-285, 1984.

7. Varró A, Nakaya Y, Elharrar V, Surawicz B: Use-dependent effects of amiodarone on V_{max} in cardiac Purkinje fibres and ventricular muscle. *Eur J Pharmacol*, 112, 419-422, 1985.
8. Follmer CH, Aomine M, Yeh JZ, Singer DH: Amiodarone-induced block of sodium current in isolated cardiac cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 243, 187-194, 1987.
9. Nishimura M, Follmer CH, Singer DH: Amiodarone blocks calcium current in single guinea pig ventricular myocytes. *J Pharmacol Exp Ther*, 251, 650-659, 1989.
10. Polster P, Broekhuysen J: The adrenergic antagonism of amiodarone. *Biochem Pharmacol*, 25, 131-134, 1976.
11. Harris L, McKenna WJ, Rowland E, Holt DW, Storey GCA, Krikler DM: Side effects of long-term amiodarone therapy. *Circulation*, 67, 45-51, 1983.
12. Moro S, Celestino D, Elizari MV, Sicouri S: Acute amiodarone and dronedarone reduce transmural dispersion of repolarisation and abolished early after depolarisation (EADs) in the canine ventricle. *PACE*, 22, 786, 1999.
13. Sun W, Sarma JSM, Singh BN: Electrophysiological effects of dronedarone (SR 33589), a noniodinated benzofuran derivative, in the rabbit heart. Comparison with amiodarone. *Circulation*, 100, 2276-2281, 1999.
14. Manning A, Thisse V, Hodeige D, Richard J, Heyndrickx JP, Chatelain P: SR-33589, a new amiodarone like antiarrhythmic agent: electrophysiological effects in anesthetized dogs. *J Cardiovasc Pharmacol*, 25, 252-261, 1995b.
15. Finance O, Manning A, Chatelain P: Effects of a new amiodarone - like agent, SR 33589, in comparison to amiodarone, D, L, -sotalol, and ϵ -lignocaine, on ischemia - induced ventricular arrhythmias in anaesthetized pigs. *J Cardiovasc Pharmacol*, 26, 570-576, 1995.
16. Manning AS, Bruyninckx C, Ramboux J, Chatelain P: SR-33589, a new amiodarone-like agent: effect on ischaemia- and reperfusion-induced arrhythmias in anesthetized rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, 26, 453-461, 1995a.
17. Ohler A, Amos GJ, Wettwer E, Ravens U: Frequency-dependent effects of E-4031, almokalant, dofetilide and tedisamil on action potential duration: no evidence for "reverse use dependent" block. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 349, 602-610, 1994.
18. Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK: Two components of cardiac delayed rectifier K^+ current: differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents. *J Gen Physiol*, 96, 195-215, 1990.
19. Chinn K: Two delayed rectifiers in guinea pig ventricular myocytes distinguished by tail current kinetics. *J Pharmacol Exp Ther*, 264, 553-560, 1993.
20. Gintant GA: Regional differences in I_K density in canine left ventricle: role of I_{Ks} in electrical heterogeneity. *Am J Physiol*, 268, H605-H613, 1995.
21. Salata JJ, Jurkiewicz NK, Jow B, Folander K, Guinosso PJ, Raynor B, Swanson R, Fermini B: I_K of rabbit ventricle is composed of two currents: evidence for the slowly activating current I_{Ks} . *Am J Physiol*, 271, H2477-H2489, 1996.
22. Li G-R, Feng J, Yue L, Carrier M, Nattel S: Evidence for two components of delayed rectifier K^+ current in human ventricular myocytes. *Circ Res*, 78, 689-696, 1996.
23. Hondeghem LM, Snyders DJ: Class III antiarrhythmic agents have a lot of potential but a long way to go. Reduced effectiveness and dangers of reverse use-dependence. *Circulation*, 81, 686-690, 1990.
24. Salata JJ, Brooks RR: Pharmacology of azimilide dihydrochloride (NE-10064), a class III antiarrhythmic agent. *Cardiovasc Drug Rev*, 15, 137-156, 1997.
25. Brooks RR, Pong SF, Izzo NJ, Moorehead TJ, Gopalakrishnan M, Triggler DJ: Interaction of azimilide with neurohumoral and channel receptors. *Biochem Pharmacol*, 62, 883-892, 2001.
26. Karam R, Marcello S, Brooks RR, Corey AE, Moore A: Azimilide dihydrochloride, a novel antiarrhythmic agent. *Am J Cardiol*, 81, 40D-46D, 1998.
27. Connolly SJ, Schnell DJ, Page RL, Wilkinson WE, Marcello SR, Pritchett EL: Dose-response relations of azimilide in the management of symptomatic, recurrent, atrial fibrillation. *Am J Cardiol*, 88, 974-979, 2001.
28. Camm AJ, Karam R, Pratt CM: The Azimilide Post-Infarct Survival Evaluation (ALIVE) Trial. *Am J Cardiol*, 81, 35D-39D, 1998.
29. Camm AJ, Pratt CM, Schwartz PJ, Al-Khalidi HR, Spyt M, Holroyde MJ, Karam R, Sonnenblick EH, Brum JM: Azimilide Post Infarct Survival Evaluation (ALIVE): Azimilide does not affect mortality in post-myocardial infarction patients. *Circulation*, 104 (abstract), 2001.
30. Varró A, Lathrop DA: Sotalol and Mexiletine. *J Cardiovasc Pharmacol*, 16, 557-567, 1990.

31. Baláti B, Iost N, Simon J, Varró A, Papp JG: Analysis of electrophysiological effects of ambasilide, a new antiarrhythmic agent, in canine isolated ventricular muscle and Purkinje fibers. *Gen Pharmacol*, 34, 85-93, 2000.
32. Varró A, Baláti B, Iost N, Takács J, Virág L, Lathrop DA, Lengyel C, Tálosi L, Papp JGY: The role of the delayed rectifier component I_{Ks} in dog ventricular muscle and Purkinje fibre repolarization. *J Physiol*, 523, 67-81, 2000.
33. Sanguinetti MC, Scott AL, Zingaro G, Siegl PKS: BRL 34915 (cromakalim) activates ATP-sensitive K^+ current in cardiac muscle. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 85, 8360-8364, 1988.
34. Sicouri S, Moro S, Litovsky S, Elizari MV, Antzelevitch C: Chronic amiodarone reduces transmural dispersion of repolarisation in the canine heart. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 8, 1269-1279, 1997.
35. Kato R, Venkatesh N, Kamiya K, Yabek S, Kannan R, Singh BN: Electrophysiologic effects of desethylamiodarone, an active metabolite of amiodarone: comparison with amiodarone during chronic administration in rabbits. *Am Heart J*, 115, 351-359, 1988.
36. Anderson KP, Walker R, Dustman T, Lux RL, Ershler PR, Kates RE, Urie PM: Rate-related electrophysiologic effects of long-term administration of amiodarone on canine ventricular myocardium in vivo. *Circulation*, 79, 948-958, 1989.
37. Finance O, Planchenault J, Bethenies S, Richaud JP, Gautier P, Nisato D: Electrophysiological and haemodynamic effects of a new amiodarone like agent following acute and chronic oral treatment in anaesthetised dogs. *J Mol Cell Cardiol*, 30, A251, 1998.
38. Barthelemy G, Faure F, Lignon S, Richaud JP, Boussac N, Cazaubon C, Gautier P, Nisato D: Electrocardiographic, cardiovascular and sympatholytic action of dronedarone, a new antiarrhythmic agent, in conscious dogs. *J Mol Cell Cardiol*, 30, A3, 2, 1998a.
39. Barthelemy G, Faure F, Lignon S, Richaud JP, Boussac N, Cazaubon C, Gautier P, Nisato D: Hemodynamics, electrocardiographic and sympatholytic action of amiodarone in conscious dogs. *J Mol Cell Cardiol*, 30, A3, 1, 1998b.
40. Verduyn SC, Vos HA, Leunissen HDM, Van Opstal JM, Wellens HJJ: Evaluation of the acute electrophysiologic effects of intravenous dronedarone, an amiodarone-like agent, with special emphasis on ventricular repolarisation and acquired torsade de pointes arrhythmias. *J Cardiovasc Pharmacol*, 33, 212-222, 1999.
41. Kodama I, Kamiya K, Toyama J: Cellular electropharmacology of amiodarone. *Cardiovasc Res*, 35, 13-29, 1997.
42. Nattel S: Comparative mechanisms of action of antiarrhythmic drugs. *Am J Cardiol*, 72, 13F-17F, 1993.
43. Gintant GA: Pharmacologic identification of I_{Ks} in canine ventricular myocytes: Effects of NE-10064 (azimilide). *Circulation*, 90, 1-146, 1994.
44. McIntosh MA, Tanira M, Pacini D, Kane KA: Comparison of the cardiac electrophysiologic effects of NE-10064 with sotalol and E-4031 and their modification by stimulated ischaemia. *J Cardiovasc Pharmacol*, 23, 653-657, 1994.
45. Fermini B, Jurkiewicz NK, Jow B, Guinasso PJ, Baskin EP, Lynch JJ, Salata JJ: Use-dependent effects of the class III antiarrhythmic agent NE-10064 (Azimilide) on cardiac repolarization: block of delayed rectifier potassium and L-type calcium currents. *J Cardiovasc Pharmacol*, 26, 259-271, 1995.
46. Yao J-A, Tseng G-N: Azimilide (NE-10064) can prolong or shorten the action potential duration in canine ventricular myocytes: dependence on blockade of K , Ca , and Na channels. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 8, 184-198, 1997.
47. Qi XQ, Newman D, Dorian P: Class III effect of azimilide (NE-10064): prevention of reverse use-dependence in open-chest dogs. (Abstr.) *PACE*, 19, 692, 1996.
48. Qi XQ, Newman D, Dorian P: The class III effect of azimilide is not associated with reverse use-dependence in open-chest dogs. *J Cardiovasc Pharmacol*, 34(6), 898-903, 1999.
49. Restivo M, Yin H, Caref EB, Levin R, Assadi MA, Brooks RR: Selective effect of class III antiarrhythmic agents on refractoriness determines efficacy in post infarction reentrant ventricular tachyarrhythmias (VT). (Abstr.) *Circulation*, 94, 1-161, 1996.
50. Conder ML, Hess TA, Smith MA, D'Alonzo AJ, McCulloch JR: The effects of NE-10064 on cardiac sodium channels. *FASEB J*, 8, A609, 1994.
51. Bril A, Dusseau C, Forest M, Cheval B, Faivre J: Comparative effects of BRL-32872 and azimilide on action potential duration in guinea pig isolated papillary muscle. *FASEB J*, 10, A65, 1996.
52. Gintant GA: Azimilide causes reverse rate-dependent block while reducing both components of delayed-rectifier current in canine ventricular myocytes. *J Cardiovasc Pharmacol*, 31, 945-953, 1998.

53. Papp JG, Németh M, Krassói I, Mester L, Hála O, Varró A: Differential electrophysiologic effects of chronically administered amiodarone on canine Purkinje fibres versus ventricular muscle. *J Cardiovasc Pharmacol Therapeut*, 1, 287-296, 1996.
54. Kodama I, Kamiya K, Toyama J: Amiodarone: ionic and cellular mechanisms of action of the most promising Class III agent. *Am J Cardiol*, 84, 20R-28R, 1999.
55. Bril A, Forest M, Cheval B, Faivre J: Combined potassium and calcium channel antagonistic activities as a basis for neutral frequency dependent increase in action potential duration: comparison between BRL-32872 and azimilide. *Cardiovasc Res*, 37, 130-140, 1998.
56. Nattel S, Quantz MA: Pharmacological response of quinidine induced early afterdepolarisations in canine cardiac Purkinje fibres: insights into underlying ionic mechanisms. *Cardiovasc Res*, 22(11), 808-17, 1988.
57. Zhang Z, Follmer CH, Sarma JSM, Chen F, Singh BN: Effect of ambasilide, a new class III agent, on plateau currents in isolated guinea pig ventricular myocytes: Block of delayed outward potassium current. *J Pharmacol Exp Ther*, 263, 40-48, 1992.
58. Takanaka C, Sarma JSM, Singh BN: Electrophysiologic effects of ambasilide (LU 47110), a novel class III antiarrhythmic agent, on the properties of isolated rabbit and canine cardiac muscle. *J Cardiovasc Pharmacol*, 19, 290-298, 1992.
59. Wang J, Feng J, Nattel S: Class III antiarrhythmic drug action in experimental atrial fibrillation. Differences in reverse use dependence and effectiveness between d-sotalol and the new antiarrhythmic drug ambasilide. *Circulation*, 90, 2032-2040, 1994.
60. Sager PT, Uppal P, Follmer C, Antimisiaris M, Pruitt C, Singh BN: Frequency-dependent electrophysiologic effects of amiodarone in humans. *Circulation*, 88, 1063-1071, 1993.

8. Köszönetnyilvánítás

Hálásan köszönöm Dr. Papp Gyula professzor úrnak, a Magyar Tudományos Akadémia doktorának, akadémikusnak a folyamatos segítségét és azt, hogy lehetőséget biztosított, hogy PhD hallgatóként tevékenykedhessek a Szegedi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetében.

Kiemelt köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Varró András professzor úrnak, az MTA doktorának személyes támogatásáért és azért, hogy bevezetett ebbe a jelentős kihívást jelentő kutatóterületre, mint amilyen a kardiovaszkuláris celluláris elektrofiziológia.

Köszönöm Dr. Baláti Beáta, Dr. Virág László, Dr. Iost Norbert, Dr. Hála Ottó, Dr. Németh Miklós kollégáimnak kedvességét és PhD tanulmányom alatt nyújtott segítségét.

Köszönetemet fejezem ki kollégámnak, munkahelyem osztályvezető főorvosának, Dr. Poór Ferencnek, ki hozzájárult a PhD munkámhoz.

Köszönöm Dr. Vörös László kórházigazgató úrnak kísérletes munkámhoz való hozzáállását.

Köszönöm kollégáimnak, Dr. Hati Krisztinának, Dr. Gyidik Viktóriának, Dr. Várallyay Zoltánnak PhD tanulmányom alatt nyújtott segítségét és külön köszönet illeti munkahelyem nővércapatának kedvességét.

Köszönöm Molnár Zsuzsának, Kiss Etának, Szabadi Évának, Tajti Istvánnak, Dobai Gábornak és Horváth Gyulának a PhD munkámhoz nyújtott technikai segítségét.

Szeretnék köszönetet mondani barátomnak, Dr. Tóth Józsefnek és unokatestvéremnek, Dr. Domjan Hansnak, kik a PhD munkámhoz szükséges irodalmi kutatásban segédkeztek.

Végezetül köszönöm szüleim, különösen édesanyám lelkes támogatását.