

# **A repolarizációs tartalék szerepe emlős szívizomban**

**PhD Tézis összefoglaló**

**Kristóf Attila A. MSc**

**MTA-SZTE Keringésfarmakológiai Kutatócsoport**

**és**

**SZTE, ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet**

**Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola**

**Szeged, Magyarország**

**2015**

## Közlemények

### Az értekezés alapját képező közlemények

- I. **Kristóf A**, Husti Z, Koncz I, Kohajda Z, Szél T, Juhász V, Biliczki P, Jost N, Baczkó I, Papp JGy, Varró A, Virág L. Diclofenac prolongs repolarization in ventricular muscle with impaired repolarization reserve.  
*PLoS ONE* 7(12): e53255. doi:10.1371/journal.pone.0053255, 2012.  
Impakt faktor (2011): 4.092
  
- II. L. Virág, N Jost, R Papp, I Koncz, **A Kristóf**, Zs Kohajda, G Harmati, B Carbonell-Pascual, J M Ferrero (Jr), J Gy Papp, P P Nánási, A Varró. Analysis of the contribution of  $I_{to}$  to repolarization in canine ventricular myocardium.  
*British Journal of Pharmacology*, 164, 93–105, 2011.  
Impakt faktor (2011): 4.409
  
- III. Cs. Lengyel, L. Virág, P.P. Kovács, **A. Kristóf**, P. Pacher, E. Kocsis, Zs. M. Koltay, P. P. Nánási, M. Tóth, V. Kecskeméti, J.Gy. Papp, A. Varró and N. Jost. Role of slow delayed rectifier  $K^+$ -current in QT prolongation in the alloxan-induced diabetic rabbit heart.  
*Acta Physiol* 2008, 192, 359–368  
Impakt faktor (2008): 2.455

### Egyéb közlemények

- I. J. Prorok, PP Kovacs, **A Kristóf**, N. Nagy, D. Tombacz, J.S. Toth, B. Ordog, N. Jost, L. Virag, J.Gy. Papp, A. Varró, A. Toth, Zs Boldogkoi. Herpesvirus – mediated delivery of a genetically encoded fluorescent  $Ca^{2+}$  sensor to canine cardiomyocytes.  
*J. Biomed Biotechnol*, Volume 2009, Article ID 361795, 12 pages, 2009.  
Impakt faktor (2009): 1.750
  
- II. I. Koncz, T. Szél, M. Bitay, E. Cerbai, K. Jaeger, F. Fülöp, N. Jost, L. Virág, P. Orvos, L. Tálosi, **A. Kristóf**, I. Baczkó, J Gy. Papp, A. Varró. Electrophysiological effects of ivabradine in dog and human cardiac preparations: potential antiarrhythmic actions.  
*European Journal of Pharmacology*, 668, 419-426, 2011.  
Impakt faktor (2011): 2.516

- III. N Jost, Zs. Kohajda, **A. Kristóf**, P. P. Kovács, Z. Husti, V. Juhász, L. Kiss, A. Varró, L. Virág, I. Baczkó. Atrial remodelling and novel pharmacological strategies for antiarrhythmic therapy in atrial fibrillation (review).  
*Current Medicinal Chemistry*, 18, 3675-3694, 2011.  
Impakt faktor (2011): 4.859
- IV. Corici C, Kohajda Z, **Kristóf A**, Horvath A, Virág L, Szél T, Nagy N, Szakonyi Zs, Fülöp F, Muntean DM, Varró A, Jost N. L-364,373 (R-L3) enantiomers have opposite modulating effects on I-Ks in mammalian ventricular myocytes  
*Canadian Journal of Physiologi and Pharmacology*, 91, 586-592.  
Impakt faktor (2013): 1.546

#### **Absztraktok**

- I. Kristóf A, Virág L, Kovács PP, Lengyel Cs, Horváth Z, Papp JGy, Varró A  
A tranziens kifelé haladó kálium áram szerepe kutya kamrai szívizomban  
*Cardiologia Hungarica* 37:(Suppl.A) p. A60. (2007)
- II. Kristóf A, Koncz I, Szél T, Jost N, Biliczki P, Papp JGy, Varró A, Virág L  
Diclofenac hatása a repolarizációra kutya kamrai szívizomban. (Effects of diclofenac on the repolarization in dog ventricular muscle)  
*Cardiologia Hungarica* 40:(Suppl.G) p. G44. (2010)
- III. Kristóf A, Kohajda Zs, Szél T, Husti Z, Baczkó I, Varró A, Jost N, Virág L  
Transient outward potassium current in dog atrial preparations. (A tranziens kifelé haladó káliumáram kutya pitvari preparátumokon)  
*Cardiologia Hungarica* 41:(Suppl.F) p. F35. (2011)

## BEVEZETÉS

### A repolarizációs rezerv

A SWORD tanulmány óta közismert, hogy az anti-aritmiás szerek polimorf kamrai tachycardiát (TdP) indukálhatnak, mely végzetes kimenetelű kamrai fibrillációhoz vezethet. Ez a pro-aritmiás hatás ezek a szerek, melyek leginkább III. osztálybeli anti-aritmikumok,  $QT_c$  nyújtó hatásához kapcsolódik. Azonban nem csak az anti-aritmikumok bírnak pro-aritmiás  $QT_c$  nyújtó hatással, hanem számos egyéb gyógyszer is, beleértve antibiotikumokat, antipszichotikumokat, antidepresszánsokat és antihisztaminokat. Jóllehet ezen gyógyszerek által előidézett TdP vagy hirtelen szívleállás előfordulásának gyakorisága csekély, sokat közülük, pl. a cisapride-ot és a terfenadine-t kivonták a piaci forgalomból. Ezáltal, annak érdekében, hogy kisebb proaritmiás hatással bíró, biztonságosabb gyógyszerek szülessenek, fontos megérteni a repolarizációs rendellenességek mechanizmusát, melyek ezekhez az életveszélyes aritmiákhoz vezetnek.

A „repolarizációs rezerv” elmélete szerint több különböző kálium áram hatékony, együttes működése hozza létre a szívizom repolarizációját, amely így egy túlbiztosított élettani folyamat. Eszerint egészséges szívben egy kálium áram sérülése vagy farmakológiai blokkolása nem eredményez veszélyes  $QT_c$  megnyúlást, így ez a mechanizmus erős biztonsági tartalékot nyújt a repolarizációhoz, ugyanis a többi épp ioncsatorna kompenzálja a sérült ionáram működésének zavarát. Azonban kóros körülmények között, amennyiben egy vagy több fajta kálium áram sérülése, veleszületett kóros deffektusok, átépülések vagy egyéb szívbetegségek miatt, egy másik  $K^+$  áram gátlása vagy sérülése az akciós

potenciál időtartamának (APD) és a  $QT_c$  intervallum túlzott megnyúlását okozhatja, ami veszélyes szívritmuszavarokhoz vezethet, mint pl. a TdP.

### **A repolarizációt és a repolarizációs tartalékot befolyásoló fő $K^+$ áramok**

- Késői egyenirányító káliumáram gyors komponense ( $I_{Kr}$ )
- Késői egyenirányító káliumáram lassú komponense ( $I_{Ks}$ )
- Befelé egyenirányító káliumáram ( $I_{K1}$ )
- Tranziens kifelé haladó káliumáram ( $I_{to}$ )

A szív repolarizációját számos ki- és befelé haladó transzmembrán ionáram és különböző pompa mechanizmus kontrollálja. Mivel ezek az áramok folyamatos és dinamikus interakcióban vannak egymással, a repolarizáció mechanizmusa rendkívül összetett. Ezen ionáramok közül sok nem csak a membrán potenciáltól, hanem a sejten belüli  $Ca^{2+}$  szinttől is függ, mely folyamatosan változik az akciós potenciál tartama alatt. Így nagyon nehéz az egyes ionáramok szerepét vizsgálni a repolarizációs folyamatban.

Általános az a nézet, hogy az  $I_{to}$  csak az akciós potenciál korai repolarizációs szakaszában játszik szerepet, mert az áram viszonylag hamar inaktíválódik a plató során. Úgy vélték továbbá, hogy az áram befolyásolja a plató potenciált, ezáltal hatással lehet más, fontos transzmembrán ionáramokra, melyek indirekt módon befolyásolják a kamrai repolarizációt. Az  $I_{to}$  hozzájárulása az akciós potenciál repolarizációjához és a repolarizációs tartalékhoz azonban még nem tisztázott, és ellentmondásos.

## **A lecsökkent repolarizációs tartalékkal kapcsolatos kóros elváltozások**

### *Szívelégtelenség*

A szívelégtelenség nagyon gyakori betegség a fejlett országokban, még rosszabb várható élettartammal, mint a rákos megbetegedések. A szívelégtelenség gyakori okai a szívkoszorú artéria megbetegedése, miokardiális infarktus, magas vérnyomás, pitvar fibrilláció, billentyű zavarok és kardiomiopátia. Ezeknek a betegeknek a fele azonban hirtelen szívéllás áldozata lesz, melyet végzetes kamrai szívritmuszavar okoz. Kimutatták, hogy a kamrai akciós potenciál a szívelégtelen betegek esetében, és az állatkísérletekben is megnyúlt. A legkövetkezetesebb eredmények szerint a tranziens kifelé haladó káliumáram, és a késői egyenirányító káliumáram lassú komponensének denzitása lecsökkent. A befelé egyenirányító káliumáram csökkenését más tanulmányok is jelezték. A késői egyenirányító káliumáram gyors komponensére vonatkozó eredmények azonban ellentmondások.

### *Diabétesz mellitusz*

A diabetes mellitusnak mind az egyes, mind a kettes típusa kapcsolódik a hirtelen szívhalál megnövekedett kockázatához, mely nem tulajdonítható atherosclerosisnak, hyperlipidaemiának, szívelégtelenségnek, vagy más patológiai elváltozásnak. A  $QT_c$  intervallum megnyúlását, illetve megnövekedett  $QT_c$  diszperziót észleltek 1-es típusú cukorbeteg esetében, amely a megnövekedett számú szívhalál hátterében állhat diabetesben. Lengyel és társai a tranziens kifeléhaladó és a késői egyenirányító kálium áramok lassú komponensének denzitás csökkenését figyelték meg cukorbeteg kutyákon. A cukorbeteg állatoknál más ionáramok, mint pl. a befelé egyenirányító káliumáram, késői egyenirányító káliumáram gyors komponense és az L-típusú kalciumáram nem változtak. Egyéb munkákban cukorbeteg nyulak esetében feljegyezték az  $I_{Kr}$  denzitásának

csökkenését, de a szerzők nem tárgyalták más ionáramok viselkedését. Tehát az  $I_{to}$ ,  $I_{Ks}$  és  $I_{Kr}$  csökkent denzitása, melyet különböző speciesekben figyeltek meg, indukálhatja a diabétesz mellitusban szenvedő betegeknél talált repolarizációs abnormalitásokat és az enyhe QT megnyúlását, melyek szívritmus zavar kockázatának növekedéséhez és hirtelen szívleálláshoz vezethetnek.

### *LQT szindróma*

A veleszületett hosszú QT szindróma (LQT) jelentősen gyengítheti a szív repolarizációs tartalékát. A repolarizációs folyamat sérüléséhez vezető nagyszámú ioncsatorna gén mutációja növeli a TdP rizikóját, mely ventrikuláris fibrillációhoz vezethet. Ezek a mutációk funkcióvesztő mutációk, melyek az  $I_{Ks}$ ,  $I_{Kr}$ ,  $I_{K1}$  repolarizációs áramok redukcióját okozzák, vagy funkció növelő mutációk, mint pl. az alfa alegység mutációja a nátrium csatorna esetén, mely lelassítja a nátriumáram inaktivációját, ezzel növelve a késői nátrium áramot ( $I_{NaL}$ ).

Közismert, hogy sok anti-aritmiás hatóanyag és egyéb, nem szívgyógyszer (pl. néhány antihisztamin, antibiotikum, pszichotrópiás szer, stb.) bír  $K^+$  csatornablokkoló tulajdonsággal és mutat torsadogén aktivitást. Nemcsak a genetikai rendellenességek, gyógyszerek és a diabétesz, hanem olyan rizikófaktorok, mint pl. hipokalémia, hipomagnezémia, női nem, hipotireózis, és testhőmérsékleti abnormalitások is gyengíthetik a repolarizációs tartalékot.

### *Élsportolók*

Versenysportolóknál a kemény edzések visszafordítható kardiális hipertrófiához, úgynevezett sportszívhez vezetnek. A szívizom hipertrófia azonban elektromos átépüléshez vezethet, amely számos káliumáram alulszabályozásával (down-reguláció) jár együtt, köztük az  $I_{Ks}$  áraméval is, mely olyan repolarizációs áram, melynek különösen fontos szerepe van a kamrai repolarizációs rezervben. Így a szívizom hipertrófia csökkent repolarizációs tartalékhoz vezethet, ami

növelheti a szívritmuszavarok és a hirtelen szívhalál kockázatát. Mindazonáltal a repolarizációs rezerv enyhe csökkenése önmagában nem feltétlenül növeli jelentősen az aritmia kockázatát, de együtt más, fontos tényezőkkel, melyek befolyásolják a repolarizációs tartalékot és az aritmogenezist, olykor vezethetnek hirtelen szívleálláshoz. Ezek a kockázati tényezők lehetnek más szívbetegségek, hypokalémia, dopping és látszólag ártalmatlan gyógyszerek, mint pl. a nem-szteroid gyulladásgátló szerek, melyeket a sportolók gyakran használnak sportsérüléseik fájdalmainak enyhítésére. Feltételezhetjük tehát, hogy a nem-szteroid gyulladáscsökkentő szereknek a kálium csatornákra kifejtett elektrofiziológiai hatásai révén megnyújthatják a kamrai repolarizációt, veszélyes szívritmuszavarokat okozva, melyek hozzájárulnak a hirtelen szívhalál kockázatának növeléséhez fiatal sportolóknál.

## CÉLKITŰZÉSEK

- Vizsgálataink célja a diclofenac elektrofiziológiai hatásainak elemzése volt különböző kutya kamrai szívizom preparátumokon. Vizsgálni kívántuk a szer hatását:

- (a) kamrai akciós potenciálra
- (b) 4-aminopiridin szenzitív tranziens kifelé haladó kálium áramra ( $I_{to}$ )
- (c) befelé egyenirányító kálium áramra ( $I_{K1}$ )
- (d) késői egyenirányító kálium áram gyors és lassú komponensére ( $I_{Kr}$  és  $I_{Ks}$ )
- (e) L-típusú kalcium áramra ( $I_{Ca}$ ).

- Tanulmányozni kívántuk az  $I_{to}$  kutya kamrai repolarizációban betöltött szerepét.

- Meg kívántuk vizsgálni az alloxan által indukált 1-es típusú diabetes hatására kialakuló elektrofiziológiai változásokat nyúlon.



## EREDMÉNYEK

### **A diclofenac, mint nem szteroid gyulladásgátló szer hatása a repolarizációra kutya kamrai szívizomsejtekben**

#### *A diclofenac hatása az akciós potenciálra*

A diclofenac akciós potenciál konfigurációjára gyakorolt hatásait tanulmányoztuk kutyák jobb kamrai papilláris izmain és Purkinje rostokban. Kis mértékű, de statisztikailag szignifikáns akciós potenciál megnyúlást indukált 20  $\mu\text{M}$  diclofenac 1 Hz ingerlési frekvencia esetén. A depolarizáció maximális sebességét ( $V_{\text{max}}$ ) szintén csökkentette a szer. A szernek az akciós potenciál időtartamára (APD) vonatkozó frekvenciafüggő hatását 300-5000 ms közötti ciklushosszokon vizsgáltuk. Ezen körülmények között a diclofenac enyhe frekvencia-független APD megnyúlást idézett elő.

Kutyák Purkinje roston azonban a szer szignifikánsan rövidítette az akciós potenciál időtartamát, és csökkentette a  $V_{\text{max}}$ -ot 500 ms-os alap ciklushosszon, ami a szer nátrium csatorna blokkoló hatására utal.

A repolarizációs rezervet nagy mértékben gyengítette 30  $\mu\text{M}$   $\text{BaCl}_2$  adagolása, mely részben blokkolja az  $I_{\text{K1}}$  áramot kutya jobb kamrában. A  $\text{BaCl}_2$  fordított frekvencia-függő módon nyújtotta meg az APD-t.  $\text{BaCl}_2$  jelenlétében 20  $\mu\text{M}$  diclofenac további jelentős mértékű APD megnyúlást indukált, azaz a diclofenac APD nyújtó hatása jelentősen növekedett olyan preparátumokban, melyekben a repolarizációs tartalékot a  $\text{BaCl}_2$  előzetes alkalmazása legyengítette. Ilyen körülmények között a szer fordított frekvencia-függő APD megnyújtást okozott.

### *A diclofenac hatása a transzmembrán ionáramokra*

A szer hatásait a 4-aminopyridine szenzitív  $I_{to}$ -ra, a befelé egyenirányító kálium áramra ( $I_{K1}$ ), a késői egyenirányító kálium áram gyors és lassú komponenseire ( $I_{Kr}$  and  $I_{Ks}$ ), és az L-típusú kalcium áramra vizsgáltuk kutya bal kamrai miocitákon. Diclofenac (50  $\mu$ M kocentráció) nem befolyásolta az  $I_{to}$  vagy  $I_{K1}$  áramokat.

Az  $I_{Kr}$  és az  $I_{Ks}$  áramokat 1000 ms ( $I_{Kr}$ ), ill. 5000 ms ( $I_{Ks}$ ) időtartamú feszültség impulzusok segítségével mértük -30 mV és 50 mV ( $I_{Kr}$ ), ill. -20 mV és 50 mV ( $I_{Ks}$ ) közötti tesztpotenciálokon. 30  $\mu$ M diclofenac jelentősen csökkentette az  $I_{Kr}$  és  $I_{Ks}$  áramokat.

Az  $I_{Ca}$  áramot 400 ms időtartamú depolarizáló feszültség impulzussal aktiváltuk -35 és 55 mV közötti teszt potenciálokon. Az  $I_{to}$  áramot 3 mM 4-aminopiridin segítségével gátoltuk. A diclofenac (30  $\mu$ M) kis mértékben, de statisztikailag szignifikánsan csökkentette az áram amplitúdóját.

### **Az $I_{to}$ repolarizációban betöltött szerepének vizsgálata kutya kamrai szívizomsejteken**

#### *Az $I_{to}$ kinetikai tulajdonságai kutya kamrai miocitákon*

Az  $I_{to}$  áramot 300 ms időtartamú depolarizáló feszültség impulzussal aktiváltuk a -80 mV-os holding potenciálról fokozatosan 50 mV-ig növekvő teszt potenciálokon. Korábbi eredmények szerint az  $I_{to}$  olyan gyorsan aktiválódik és inaktiválódik, hogy csupán a repolarizáció nagyon korai szakaszához járul hozzá. Azonban az  $I_{to}$  inaktivációja két komponensből áll. A gyors komponens időállandója kevesebb, mint 5 ms volt, mely viszonylag kis feszültség függést mutat. Az áram gyors komponensét követő lassú inaktivációs fázis időállandója 14 és 23 ms között változott, míg amplitúdója elérte a csúcsáram 10-20 %-át. Az  $I_{to}$  steady-state

aktivációját 10 mV-os lépésekkel 80 mV-ig emelkedő teszt impulzusok alkalmazásával vizsgáltuk. Az  $I_{to}$  steady-state aktivációs és inaktivációs görbéinek közelebbi vizsgálata átfedést mutatott a két görbe között, egy „window  $I_{to}$  áramot” jelezve, mely hasonló a korábban kimutatott  $I_{Na}$  és  $I_{Ca}$  eseteihez. Ez a steady-state áram, mely csaknem az 5%-át teszi ki az  $I_{to}$  amplitúdójának -30 mV környezetében, szintén hozzájárulhat a repolarizációhoz a kései plató, vagy a repolarizáció korai szakaszában.

#### *Az $I_{to}$ szerepe a repolarizációs tartalékban*

Az akciós potenciálra ható  $I_{to}$  blokk következményeit kutya jobb kamrai subepicardiális szívizom preparátumokon tanulmányoztuk 100  $\mu$ M chromanol 293B alkalmazásával 0.5  $\mu$ M HMR-1556 (teljes  $I_{Ks}$  gátlás) jelenlétében. Ez utóbbi beavatkozás azért volt szükséges, hogy kiküszöböljük a chromanol 293B  $I_{Ks}$  blokkoló hatásából eredő esetleges változásokat. Az  $I_{Ks}$  teljes gátlása csupán enyhén nyújtotta meg az APD-t. Az  $I_{to}$  további szupressziója 100  $\mu$ M chromanol 293B alkalmazásával,  $I_{Ks}$  blokk jelenlétében szignifikánsan megnyújtotta az APD-t, és csökkentette a korai repolarizációs fázis amplitúdóját. Ezeket a változásokat a plató potenciál pozitív irányba való elmozdulása kísérte. Az  $I_{to}$  gátlás APD megnyújtó hatása fordított frekvenciafüggő tulajdonságokat mutatott.

A repolarizációs tartalékot nagyban meggyengítette 0.1  $\mu$ M dofetilide alkalmazása  $I_{Ks}$  blokk jelenlétében. A dofetilide jelentősen, fordított frekvenciafüggő módon megnyújtotta a repolarizációt. 100  $\mu$ M chromanol 293B alkalmazása után a repolarizáció megnyúlása drámaian megnövekedett, kiváltképp a lassú stimulációs frekvenciákon, szintén fordított frekvenciafüggő módon. Az APD chromanol által indukált megnyúlásának nagysága lassú frekvenciákon nagyobb volt, mint a chromanol 293B és dofetilide által okozott APD megnyúlás aritmetikai

összege. Számos esetben korai utó-depolarizációt (EAD) figyeltünk meg 2 mp-nél hosszabb ciklushosszok esetében.

## **A diabetes hatásai a kamrai repolarizációra és az azt meghatározó fontosabb transzmembrán ion áramokra nyúliszívben**

### *A diabétesz hatása a kamrai repolarizációra*

Három héttel az alloxan kezelés után a cukorbeteg állatok QT intervalluma csekély mértékben, de szignifikánsan hosszabb volt, mint az alloxan alkalmazása előtti mérésekben. Mivel az RR intervallumok szintén megnövekedtek a cukorbeteg nyulaknál, a diabetes által előidézett QT<sub>c</sub> intervallum megnyúlása kevésbé volt hangsúlyos, statisztikailag azonban szignifikáns volt. Semmilyen jelentős változás nem volt megfigyelhető a kontroll csoportba tartozó állatoknál az egységesen három hetes periódus alatt.

### *A diabétesz által indukált változások az ionáramokban*

A steady-state áram-feszültség karakterisztikát úgy határoztuk meg, hogy megmértük a steady-state áram nagyságát a 300 ms időtartamú feszültség impulzusok végén -120 - 0 mV közötti potenciáltartományokban. A mért értékeket ábráztuk a teszt potenciál függvényében. A holding potenciál -90 mV volt. Nem tapasztaltunk lényeges különbséget a steady-state áram-feszültség összefüggésben és így az I<sub>K1</sub> áram denzitásában kontroll és cukorbeteg nyulak között.

Az I<sub>to</sub> áramot úgy aktiváltuk, hogy a sejteket 400 ms időtartamú impulzusokkal -10-től 60 mV közötti teszt potenciálokra depolarizáltuk. A holding potenciál -90 mV volt. Az I<sub>to</sub> amplitúdóját a teszt potenciál elején mért csúcs-áram és a teszt potenciál végén mért steady-state áram különbségeként határoztuk meg. Az I<sub>to</sub> amplitúdója nem különbözött számottevően a kontroll és cukorbeteg

nyulakból izolált kamrai szívizomsejtekben. Az inaktivációból való visszatérés kinetikáját sem módosította a diabétesz.

Az  $I_{Kr}$  áramot 1 s időtartamú -20 és 50 mV közötti teszt potenciálokra depolarizáló feszültség impulzusokkal aktiváltuk. A teszt potenciálról a -40 mV-os holding potenciálra történő repolarizáció során kialakuló deaktivációs áram, az ún. fark áram amplitúdóját mértük. Az áram aktivációs kinetikáját az „envelope tail” teszt protokoll segítségével, míg a deaktivációs kinetikát -40 mV-on a deaktivációs fark áramhoz exponenciális függvény illesztésével mértük. Ezeket a kísérleteket 30  $\mu$ M chromanol 293B jelenlétében végeztük, hogy gátoljuk az  $I_{Ks}$  áramot. Sem az  $I_{Kr}$  denzitásában sem az áram kinetikai tulajdonságaiban nem találtunk különbséget a kontroll csoport és a diabeteses csoport között.

Az  $I_{Ks}$  áram denzitását és kinetikai tulajdonságait hasonlóképpen mértük, mint az  $I_{Kr}$  esetében, de az áram aktiválásához 5 s időtartamú depolarizáló feszültség impulzusokat használtunk. Ezeket a kísérleteket 1  $\mu$ M E-4031 jelenlétében végeztük, hogy gátoljuk az  $I_{Kr}$ -t. Úgy találtuk, hogy az  $I_{Ks}$  denzitása szignifikánsan kisebb volt a cukorbeteg, mint a kontroll nyulak esetében. Az áram aktivációs és deaktivációs kinetikái nem változtak meg diabetes hatására.

Az befelé irányuló L-típusú kalcium áramot ( $I_{CaL}$ ) 3 mM 4-aminopyridine jelenlétében rögzítettük, így blokkoltuk az  $I_{to}$ -t. Az áramot 300 ms időtartamú -40-től 55 mV-ig terjedő teszt impulzusokkal aktiváltuk. A holding potenciál -40 mV volt. Az  $I_{CaL}$  amplitúdóit összevetettük a hozzájuk illő teszt potenciálokkal. Az  $I_{CaL}$  denzitása nem volt jelentősen eltérő a kontroll és a diabetikus csoport között.

## MEGBESZÉLÉS

### **A nem-szteroid gyulladásgátló diclofenac hatása a repolarizációra kutya kamrai szívizomban.**

Ennek a tanulmánynak a fő eredménye azt mutatja, hogy a normál szív esetén a diclofenac nem gyakorol jelentős elektrofiziológiai hatást és nem növeli az aritmia kockázatát, azonban olyan szív esetén, melyben a repolarizációs rezerv károsodott, az  $I_{Kr}$  és  $I_{Ks}$  és  $I_{Ca}$  közepes mértékű gátlása kamrai repolarizáció megnyúlásához vezethet, valamint növelheti a proaritmias kockázatot is.

Eredményeink azt mutatják, hogy normál körülmények között a diclofenac csekély akciós potenciál megnyúlást indukált kamrai munkaizom preparátumokon, azonban Purkinje rostokban akciós potenciál időtartam rövidülés volt megfigyelhető. A depolarizáció maximális sebessége mindkét preparátumnál csökkent diclofenac hatására. Nagyobb repolarizációs megnyúlás volt megfigyelhető sérült repolarizációs tartalékokkal rendelkező preparátumokban.

Eredményeink világosan mutatják, hogy a diclofenac még magas koncentrációban sem befolyásolta az  $I_{to}$  és  $I_{K1}$  áramokat, viszont csökkentette az  $I_{Kr}$  és  $I_{Ks}$  áramok amplitúdóját kutya kamrai miocitákban. A szer jelentős  $I_{Kr}$  blokkolás ellenére pusztán csekély, de statisztikailag szignifikáns akciós potenciál megnyúlást eredményezett a diclofenac adagolása után. Néhány másik megfigyelésünk megmagyarázhatja ezt a látszólag ellentmondásos eredményt. A diclofenac jelentősen csökkentette a depolarizáció maximális sebességét munkaizomban és Purkinje rostban valamint rövidítette az akciós potenciál időtartamát Purkinje rostokban, ami a szer  $Na^+$  csatorna gátló tulajdonságára utal. Ismert, hogy a késői  $Na^+$  áram hozzájárul a plató fázis fenntartásához, ami Purkinje rostban a legkifejezettebb.

Így tehát a tanulmányban bemutatott diclofenac magas koncentrációja miatt enyhén csökkenő L-típusú  $\text{Ca}^{2+}$  és késői  $\text{Na}^+$  áramok segíthetnek ellensúlyozni az  $\text{I}_{\text{Kr}}$  blokk akciós potenciált megnyújtó hatását. A szer által okozott  $\text{I}_{\text{Ks}}$  blokkolás csupán érintőlegesen befolyásolhatja az akciós potenciál időtartamát, de gyengíti a repolarizációs tartalékot.

Fontos hangsúlyozni, hogy eredményeink szerint a diclofenac önmagában történő használata, akár magas dózisban is, valószínűleg nem növeli az aritmia veszélyét; így azon személyek, akik megfelelő orvosi felügyelet mellett szedik a szert, nem kell, hogy aggódjanak proaritmias mellékhatások miatt. A diclofenac adagolása azonban növelheti a súlyos aritmias kockázat kialakulását olyan egyének esetében, akik versenysportolók, és egyéb rizikó faktorokat hordoznak: beleértve bizonyos betegségeket vagy genetikai rendellenességeket, melyek gyengítik a repolarizációs tartalékot.

### **Az $\text{I}_{\text{to}}$ szerepe a repolarizációban kutya kamrai szívizmon**

Munkánk fő eredménye és üzenete az, hogy az  $\text{I}_{\text{to}}$  szerepet játszik a repolarizáció szabályozásában, következésképp jelentősen hozzájárul a repolarizációs tartalékhoz. Így tehát az  $\text{I}_{\text{to}}$  gátlása sérült repolarizációs rezerv jelenlétében előidézhethet túlzott repolarizációs megnyúlást, mely korai utódepolarizációt (EAD) eredményez a vele járó megnövekedett proaritmias kockázattal.

30  $\mu\text{M}$  chromanol 293B által indukált repolarizációs megnyúlást  $\text{I}_{\text{Kr}}$  blokk jelenlétében korábban is leírtak kutya kamrai szívizmon, melyet az  $\text{I}_{\text{Ks}}$  és  $\text{I}_{\text{Kr}}$  együttes gátlásának tulajdonítottak; egy esetleges  $\text{I}_{\text{to}}$  blokk hozzájárulását ehhez, viszont nem vették figyelembe. A jelenlegi eredmények alapján a repolarizáció megnyújtása inkább tulajdonítható az  $\text{I}_{\text{to}}$  gátlásnak.

Fő eredményként leírtuk, hogy kutya kamrai szívizomban az  $I_{to}$  rendelkezik egy második, lassú inaktivációs komponenssel, és késői aktivációt mutat. Az  $I_{to}$  ezen közvetlen hatása, a már korábbiakban is ismert, az  $I_{Kr}$  és  $I_{Ca}$  áramokra gyakorolt közvetett hatásán felül, azt sugallja, hogy az  $I_{to}$  jelentősen hozzájárul a repolarizációhoz annak plató és késői szakaszában. Ezáltal az  $I_{to}$  gátlása a plató potenciál pozitív irányába történő elmozdulását, valamint a repolarizáció megnyúlását okozza. Még fontosabb, hogy a sérült repolarizációs tartalék esetén való APD megnyúlás – együttes  $I_{Kr}$  és  $I_{to}$  blokkolás körülményei között – olyan jelentős mértékű lehet, hogy EAD-ot eredményezhet. Mivel az  $I_{to}$  sok betegség esetében alulszabályozott, beleértve a szívélgtelenséget is, és mivel a terápiás céllal elérhető gyógyszerek nagy részét még nem tesztelték elég körültekintően az  $I_{to}$  gátlást illetően, jelen tanulmány eredményeinek fontos terápiás és biztonsági farmakológiai jelentősége van a gyógyszerek által indukált QT megnyúlás kockázatára és a hozzá kapcsolódó életveszélyes aritmiára vonatkozóan.

### **A késői egyenirányító $K^+$ áram lassú komponensének repolarizációban betöltött szerepe diabeteses nyúlón**

Vizsgálataink legfontosabb eredménye az, hogy a kísérleti körülmények mellett indukált 1-es típusú diabetes mellitus csak mérsékelt, de statisztikailag szignifikáns  $QT_c$  megnyúlást eredményezett nyúlószívben, mely az  $I_{Ks}$  denzitásának csökkenésével hozható összefüggésbe. Egyéb ionáramokban ( $I_{Kr}$ ,  $I_{to}$ ,  $I_{CaL}$ ,  $I_{K1}$ ) nem volt megfigyelhető változás.

Mivel az  $I_{Ks}$  fontos hozzájárulója a repolarizációs rezervnek, diabetes mellitus esetén ezen áram denzitásának csökkenése növeli a proaritmiás kockázatot, különösen, amikor egy másik repolarizáló kálium áram denzitása is



kisebb (pl. egy  $K^+$  csatorna genetikai rendellenessége miatt, vagy szerzett hosszú QT szindróma esetén). Következésképpen a diabeteses páciensek nagyobb pro-aritmiás rizikót hordozhatnak korlátozott repolarizációs tartalék kapacitásuknak köszönhetően még akkor is, ha a  $QT_c$  tartományuk normálhoz közeli. Ezt mindig szem előtt kell tartani gyógyszeres terápia előírásakor diabeteses pácienseknél.

Megállapítható tehát, hogy az egyes típusú diabetes mellitus, még ha mérsékelten is, de megnyújtja a kamrai repolarizációt. A diabetes gyengíti a repolarizációs rezervet az  $I_{Ks}$  áram sűrűségének csökkentése által, így erősítheti a hirtelen szívhalál kockázatát.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném kifejezni hálámat **Dr. Varró András professzor Úrnak**, amiért lehetőséget adott és folyamatos segítséget nyújtott tudományos munkám elvégzésében az SZTE-ÁOK Farmakológia és Farmakoterápiai Intézetében.

Továbbá hálámat szeretném kifejezni **Prof. Dr. Papp Gyula Széchenyi-díjas akadémikusnak**, amiért folyamatos segítséget és inspirációt adott munkám elvégzésében a Magyar Tudományos Akadémia Keringésfarmakológiai Kutatócsoportjában.

Külön köszönöm témavezetőmnek Dr. Virág Lászlónak amiért állandó segítségét és inspirációt adott munkám során.

Köszönettel tartozom Dr. Jost Norbertnek munkám során nyújtott segítségéért és tanácsaiért.

Köszönöm valamennyi kollégám támogatását és kimondhatatlan köszönet a családomnak, akik nélkül soha nem juthattam volna ideig.