

**Különböző szerek szív-elektrofiziológiai és rejtett
kardiotoxikus hatásának vizsgálata**

Varga Richárd Sándor, M.Sc.

Ph.D. tézis összefoglaló



Témavezető:

Dr. Baczkó István, M.D., Ph.D.

Szegedi Tudományegyetem

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Szeged

2022.

1. HÁTTÉR ÉS CÉLKITŰZÉS

1.1. Az SZV-270 szív-elektrofiziológiai hatásainak vizsgálata

A fejlett országokban a kardiovaszkuláris megbetegedések számítanak a vezető halál oknak. Megközelítőleg 18 millió ember veszti életét hirtelen szívhalál következtében évente, leggyakrabban súlyos kamrai ritmuszavar kamrafibrillációba való átmenetének következményeként. Miután a CAST (Cardiac Arrhythmia Suppression Trials) és a SWORD (Survival with Oral D-Sotalol) vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy a Na^+ csatorna gátló I/C és a K^+ csatorna gátló III. osztályba tartozó szerek növelték a mortalitást infarktuson átesett, csökkent ejekciós frakcióval rendelkező betegeknél, az új antiaritmiás gyógyszerek fejlesztésének középpontjába olyan szerek kerültek, melyek összetettebb ioncsatorna és receptor moduláló hatással rendelkeznek.

A pitvarfibrilláció a leggyakoribb tartósan fennálló szívritmuszavar, mely jelentős egészségügyi kockázattal jár, mivel sztrókhoz vagy szívelégtelenséghez és vezethet. A pitvarfibrilláció kezelése nem kedvező, mivel a gyógyszeres terápia korlátozott hatékonysággal bír, és az antiaritmiás szerek jelentős proaritmiás potenciállal rendelkeznek az elektrofiziológiai mellékhatásaik következtében, míg a pitvarfibrilláció ablációs kezelése komplikációkhoz és a pitvarfibrilláció kiújulásához vezethet.

Egy ígéretes megközelítése a biztonságosabb és hatékonyabb gyógyszeres kezelésnek, olyan új szerek fejlesztése, melyek összetettebb hatást fejtenek ki, és több ionáramot is befolyásolnak. Ugyan a több ionáramot is befolyásoló amiodaron továbbra is az egyik leghatásosabb antiaritmiás szernek számít, mind a pitvarfibrilláció és a súlyos kamrai ritmuszavarok kezelésében, azonban, főleg krónikus alkalmazás esetén, súlyos szíven kívüli mellékhatásokat okoz. A III. osztályba tartozó antiaritmiás szerek megnyújtják a szívizom repolarizációját és hatásosan képesek csökkenteni a re-entry típusú ritmuszavarokat, azonban képesek Torsade de Pointes (TdP) típusú kamrai ritmuszavart okozni,

valamint a D-sotalol növelte a mortalitást miokardiális infarktuson átesett betegeknél. A jelentős QT intervallumot növelő hatása ellenére, az amiodaron ritkán vált ki TdP aritmiát, valószínűleg a csökkent transzmurális repolarizációs különbségek, és a korai utódepolarizációt (EAD) gátló hatása miatt, hasonlóan az I/B osztályba tartozó antiaritmiás gyógyszerekhez. Ebből kifolyólag, az új, kombinált I/B és III. osztályú hatással bíró, egyben komoly szíven kívüli mellékhatásoktól mentes szerek fejlesztése, melyek hatásosak mind szupraventrikuláris, mind kamrai ritmuszavarok kezelésére, kellően alátámasztott.

Munkánk során egy új, összetett hatásmechanizmussal rendelkező szer, az SZV-270 szív-elektrofiziológiai hatásait vizsgáltuk nyúl és kutya pitvari és kamrai preparátumokon, valamint enzimatikusan izolált kamarai szívizom sejteken. A pitvarfibrillációra kifejtett hatását tachypace-indukálta pitvari átépüléssel rendelkező kutyákon végeztük.

1.2. A rofecoxib rejtett kardiotoxikus hatásának vizsgálata

A váratlan kardiotoxikus hatás jelentős szerepet játszik a klinikai vizsgálatok leállításában, és a gyógyszerek piacról történő visszavonásában, annak ellenére, hogy jelentős erőfeszítések történnek ezen mellékhatásoknak a gyógyszerfejlesztés korai, preklinikai fázisban történő kimutatására. Ezek a kardiotoxikus mellékhatások felfedezetlenek maradnak a preklinikai és a korai klinikai biztonságossági vizsgálatok során, és csak valamilyen szívbetegség (pl. szívizom iszkémia/reperfúzió) következtében nyilvánulnak meg, ezért ez a jelenség “rejtett kardiotoxicitás” nevet kapta. A rejtett kardiotoxicitás gyakran jelentkezik iszkémiával összefüggő végzetes szívizom sérülésként és/vagy mint iszkémia/reperfúzió-indukált szívritmuszavarként vagy a szív működési zavaraként. A rejtett kardiotoxicitás mechanizmusa magában foglalhat sejthalált, iszkémia/reperfúzió során fellépő proaritmiás folyamatokat, valamint a kardioprotektív jelátviteli útvonalak gátlását, ezek mindegyikét súlyosbíthatja valamilyen

kardiovaszkuláris társbetegség. 1953 és 2013 között közel 500 gyógyszert vontak vissza a piacról, többségben szívet érintő mellékhatással összefüggésben. Ezen felül, becslések szerint évente 197.000 haláleset tulajdonítható gyógyszermellékhatás következményének az Európai Unióban. A rejtett kardiotoxicitás felfedezetlen marad a gyógyszerfejlesztés preklinikai és a korai klinikai fázisában, mivel a jelenlegi irányelvek a biztonságossági vizsgálatok elvégzését csupán egészséges állatokon írják elő. Ráadásul, a preklinikai és klinikai szív-elektrofiziológiai biztonságossági vizsgálati irányelvek az egészséges állatokon, szöveteken, és egészséges önkénteseken történő vizsgálatokat támogatják a különböző szerek proaritmiás mellékhatásainak felderítésére, és ezek a vizsgálatok nem vonatkoztathatóak megnövekedett aritmiahajlamú betegekre. Azonban, a klinikai vizsgálatoknál, a kardiotoxikus mellékhatások előre nem látható módon jelentkeznek, gyakran szívbetegeggel és/vagy kardiovaszkuláris társbetegséggel (pl. magas vérzsír-szint, magas vércukorszint, magas vérnyomás, vagy gyulladásozós betegségek) rendelkező betegeknél. Az American College of Cardiology Foundation/American Heart Association irányelvében javasolja bizonyos gyógyszerek, pl. a ciklooxygenáz-2 (COX-2) gátlók használatának kerülését a szívelégtelenség esetén, mivel ezek súlyosbíthatják a háttérben álló miokardiális funkciózavart. A COX-2 gátló rofecoxibot a VIGOR és APPROVe vizsgálatok eredményei alapján visszavonták a piacról, miután kardiovaszkuláris protrombotikus események kockázatának emelkedését figyelték meg. Később, egy 116.094 résztvevőt magában foglaló metaanalízisben összefüggést mutattak ki a rofecoxib használata és a szívritmuszavarok megnövekedett kockázata között. Számos egyéb mechanizmus is felelős lehet a rofecoxib kardiotoxikus hatásáért, mint pl. az iszkémia/reperfúzió-s sérülés elleni védelem gátlása, az epi-lipoxinok termelődésének megakadályozása, a vérnyomás növekedése, és a vaszkuláris átépülés gátlása, azonban, ezek közül egyiket sem mutatták ki a preklinikai biztonságossági vizsgálatok

során. Mindazonáltal, meghatározásunk alapján, a rofecoxib rejtett kardiotoxikus tulajdonságokat mutatott; korábban elvégzett megfelelő preklinikai vizsgálatok elvégzésével felfedhetőek lehettek volna ezen hatások, ily módon megelőzve nagy számú komoly mellékhatást, növelve ezáltal a betegek biztonságát. Az a tény, hogy a rofecoxib kardiotoxikus hatásai rejtve maradtak a preklinikai vizsgálatok során és csupán a 4-es klinikai fázisban derültek ki metaanalízisek, és óriási költségekkel rendelkező hosszútávú kardiovaszkuláris kimenetel vizsgálatok által, az sugallja, hogy érzékenyebb szűrővizsgálatokra van szükség a toxicitási vizsgálatok esetén, melyek miokardiális iszkémia/reperfúzió-s és/vagy kardiovaszkuláris társbetegségekkel rendelkező modell állatokat foglalnak magukban. Ennek érdekében, célul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy a rofecoxib rejtett kardiotoxicitása, mely feltáratlan maradt a prekliniai biztonságossági vizsgálatok során, kimutatható lett volna-e mielőtt jóváhagyják a szer használatát betegek kezelésére. Eredményeink azt mutatják, hogy a rofecoxib rejtett kardiotoxikus hatása felfedhető preklinikai iszkémia/reperfúzió modellek segítségével. Más gyógyszerek biztonságossági vizsgálata iszkémia/reperfúzió alkalmazásával felfedheti azok rejtett kardiotoxikus hatását.

2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

2.1. Etikai megfontolások

Minden állatkísérletet az NIH Laboratóriumi Állatok Kezelésének és Használatának Irányelveivel összhangban végeztünk (NIH Publikáció No. 85-23, 1996-os revízió). A kísérleti protokollokat jóváhagyta a Szegedi Tudományegyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottsága (engedélyszám: I-74-18-2016; I-74-15/2017; I-74-24/2017) és azokat a Csongrád Megyei Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Élelmiszerlánc-biztonsági és

Állategészségügyi Igazgatósága engedélyezte (engedélyszám: XIII/4227/2016; XIII/3330/2017; XIII/3331/2017).

2.2. Az SZV-270 szív-elektrofiziológiai hatásainak vizsgálata

2.2.1. Akciós potenciál mérése konvencionális mikroelektród technikával

Hím beagle kutyákat (12-15 kg) és Új-Zélandi fehér nyulakat (2-3 kg) leszedáltunk (xylazine, 1 mg/kg, i.v. and ketamine, 10 mg/kg, i.v.) és túllattunk (pentobarbital, Sigma-Aldrich, 30 mg/kg i.v.), majd jobb oldali mellkasnyitást követően a szívüket gyorsan eltávolítottuk. Az így eltávolított szíveket azonnal oxigenált módosított Locke oldatba helyeztük (összetétel mM-ban megadva): NaCl 128,3, KCl 4, CaCl₂ 1,8, MgCl₂ 0,42, NaHCO₃ 21,4, and glükóz 10. Az oldat pH-ját 7,35 és 7,4 közé állítottuk be 37°C-on 95% O₂ és 5% CO₂ keverékével szaturálva. A job kamrai papillaris izompreparátumokat 1000 ms, a pitvari preparátumokat és a Purkinje-rostokat 500 ms ciklushossz (CL) mellett ingereltük az egyensúlyi állapot kialakulásáig bipoláris platina elektródokkal. A transzmembrán potenciálokat 3 M KCL oldattal feltöltött, 5-20 M Ω ellenállással rendelkező hagyományos üveg mikroelektródával mértük. A regisztrátumokat nagy impedanciával rendelkező, oszcilloszkóphoz kapcsolt erősítővel készítettük. Az elektrofiziológiai paramétereket "Action Potential Evaluation Software" (APES) segítségével mértük és következő paramétereket regisztráltuk: a depolarizáció maximális meredeksége (V_{max}), a maximális diasztolés potenciál, az akciós potenciál amplitúdó (APA), és az akciós potenciál időtartama 10%, 25%, 50%, 75% és 90% repolarizáció mellett (APD₁₀, APD₂₅, APD₅₀, APD₇₅ és APD₉₀).

A következő ingerlési protokollokat alkalmaztuk a kísérletek során: állandó ciklushosszon történő ingerlés (1000 vagy 500 ms), különböző ciklushosszokon történő ingerlés (300 és 5000 ms közötti tartományban). A kontroll értékek regisztrálását követően 1, majd 5 μ M SZV-270 jelenlétében (40-60 perc anyaghatás) is megismételtük

az fentebb leírt méréseket. A kísérletek során törekedtünk arra, hogy a méréseket egy szúrásból végezzük el. Abban az esetben, ha az elektróda kijött a sejtből, az újra szúrás követően csak akkor folytattuk a mérést, ha a paraméterek kevesebb, mint 5%-ban tértek el a megelőző szúrásnál mértéktől.

2.2.4. Whole cell patch-clamp kísérletek

Az ionáram mérések mérések enzimatikusan izolált nyúl kamrai szívizomsejteken történtek. A sejtuszpenziót egy kádba cseppentettük, majd legalább 5 percet hagytuk ülepedni. HEPES-el puffertelt Tyrode oldatot használtunk, melynek összetétele (mM-ban megadva): NaCl 144; NaH₂PO₄ 0,4; KCl 4,0; CaCl₂ 1,8; MgSO₄ 0,53; glükóz 5,5; és HEPES 5,0; pH= 7.4. A mikropipettákat boroszilikát üveg kapillárisokból készítettük P-97 Flaming/Brown mikropipetta húzó (Sutter Co, Novato, CA, USA) segítségével. Az elektródák ellenállása 1,5-2,5 MΩ között volt, és pipetta oldattal töltöttük fel, melynek összetétele (mM-ban megadva): KOH 110; KCl 40; K₂ATP 5; MgCl₂ 5; EGTA 5; GTP 0,1 és HEPES 10, a K⁺ áram mérések esetében. A pH 7,2-re történő beállítása aszparaginsav hozzáadásával történt. Az L-típusú kalcium áram (I_{Ca,L}) méréséhez 3 mM 4-aminopyridin-t tettünk a Tyrode oldatba.

A befelé egyenirányító kálium áramot (I_{K1}), a tranziens kifelé irányuló kálium áramot (I_{to}), valamint a befelé egyenirányító kálium áram gyors komponensét (I_{Kr}) mértük nyúl kamrai szívizomsejteken. Az I_{Ca,L} gátlására 1 μM nisoldipin-t alkalmaztunk. Az I_{Kr} áram mérése esetén, I_{Ks}-t a szelektív a szelektív I_{Ks}-gátló HMR1556 (0,5 μM) hozzáadásával gátoltuk. A kísérletek 37°C-on történtek.

2.2.5. Statisztikai analízis

Az aritmiák előfordulásának esetében a χ^2 módszert alkalmaztuk. Az adatok feltüntetése átlag \pm SEM formában történt. A statisztikai analízist ORIGIN 8.1 (Microcal Software, Northampton, MA, USA) szoftver segítségével végeztük. Az átlagok közti különbségeket ANOVA, ezt követően Student-féle t-próba

segítségével végeztük. A különbségeket abban az esetben tekintettük statisztikailag szignifikánsnak, amennyiben $p < 0,05$.

2.3. A rofecoxib szív-elektrofiziológiai hatásainak vizsgálata

2.3.1. In vitro szimulált iszkémia/reperfúzió vizsgálatok

Az akciós potenciál méréseket hím Wistar patkányok (200–250 g) szívének bal kamrájából izolált papilláris izmokon végeztük. Az állatokat pentobarbitállal (30 mg kg^{-1} , i.p.) túlatattuk, majd a szívüket mellkasnyitást követően gyorsan eltávolítottuk. A bal kamrai papillárisokat oxigenizált Tyrode oldatba helyeztük, és 1000 ms-os ciklushosszon ingereltük a fentebb ismertetett módon. A papilláris izmokat 60 percig perfundáltuk az egyensúlyi állapot kialakulásáig. A kísérletek során 2 percenként regisztráltuk az akciós potenciál paramétereit. A 60 perc letelte után az oldathoz a kísérletek egy részében vivőanyagot (DMSO), egy részében rofecoxibot (1 vagy $10 \text{ } \mu\text{M}$) adtunk és 90 percen keresztül 2 percenként regisztráltuk az akciós potenciálokat. Az $1 \text{ } \mu\text{M}$ koncentrációt az egyszeri 5 mg kg^{-1} szájon át történő beadását követő legmagasabb plazma koncentráció (C_{max}) alapján választottuk. A DMSO legmagasabb koncentrációja a $10 \text{ } \mu\text{M}$ rofecoxib alkalmazását követően $0,2\%$ volt a Tyrode oldatban. Az iszkémiás kísérletek során a 60 perc alapvonal felvétele és 30 perc normoxiás körülmények közötti szerhatás vizsgálatát követően a preparátumokat 30 percig nitrogénnel szaturált iszkémiás oldattal perfundáltuk, melynek összetétele (mM-ban): NaCl 144; NaH_2PO_4 0,4; KCl 4; MgSO_4 0,53; CaCl_2 1,8; 2-dezoxi-D-glükóz 5,5; HEPES 5; pH= 6,9, $37 \text{ } ^\circ\text{C}$ -on. Ezt követően ismét normoxiás oldattal perfundáltuk 30 percen keresztül. Mind az iszkémiás, mind a normoxiás oldat alkalmazása esetén vivőanyag, 1 vagy $10 \text{ } \mu\text{M}$ rofecoxib jelenlétében történt a vizsgálat.

A kísérletek egy részénél szimulált iszkémiás prekondicionálást végeztünk a 30 perces iszkémiát megelőzően, a következő protokoll alkalmazásával: háromszor 5 perces szimulált iszkémia 5 perces

köztes reperfüziós periódusokkal. Az utolsó reperfüziós periódus 15 percig tartott.

A következő paramétereket vizsgáltuk: a depolarizáció maximális meredeksége (V_{\max}), a maximális diasztolés potenciál, az akciós potenciál amplitúdó (APA), és az akciós potenciál időtartama 75% és 90% repolarizáció mellett (APD_{75} és APD_{90}). A kísérletek során törekedtünk arra, hogy a méréseket egy szúrásból végezzük el. Abban az esetben, ha az elektróda kijött a sejtből, az újra szúrás követően csak akkor folytattuk a mérést, ha a paraméterek kevesebb, mint 5%-ban tértek el a megelőző szúrásnál mértektől.

2.3.2. Statisztikai analízis

A csoportok közti különbséget két vagy egy utas ANOVA, majd ezt követően Fisher LSD post hoc tesztekkel vizsgáltuk. GraphPad Prism (6.0 verzió, GraphPad Software, California, USA) és R (3.4 verzió) szoftvereket alkalmaztunk. A különbségeket abban az esetben tekintettük statisztikailag szignifikánsnak, amennyiben $p < 0,05$.

3. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

3.1. Az SZV-270 kombinált I/B és III. osztályú hatással rendelkezik

Munkánk során egy új, I/B és III. osztályú molekulaszervezeti elemekkel (D-sotalol és mexiletin) rendelkező szer, az SZV-270 szív-elektrofiziológiai és antiaritmiás hatásait vizsgáltuk kutyán és nyúlön.

Az SZV-270 kamrai antiaritmiás hatásának hátterében lévő mechanizmus megértése érdekében akciós potenciál méréseket végeztünk nyúl és kutya jobb kamrai papilláris izmon, valamint kutya Purkinje-roston és jobb pitvari trabekulán. Ezen kívül ionáram méréseket végeztünk enzimatikusan izolált nyúl jobb kamrai szívizomsejteken. A szer koncentrációfüggő módon nyújtotta az

effektív refrakter periódust, valamint megnövelte az APD_{50} , APD_{75} és APD_{90} értékeket a kamrai preparátumokon mindkét faj esetén. Továbbá, az SZV-270 szignifikánsan gátolta az I_{Kr} áramot viszonylag alacsony, 100 és 500 nM koncentrációkban. Eredményeink alapján a III. osztályú antiaritmiás hatás kiegészül I/B osztályú hatással. Kutya és nyúl jobb kamrai preparátumokon, az SZV-270 nagyobb vizsgált koncentrációja (5 μ M) jelentősen csökkentette a V_{max} -ot 1000 ms-nál rövidebb ingerlési ciklushosszok esetén. Ráadásul, ebben a koncentrációban kevésbé nyújtotta az APD_{90} -et és szignifikánsan szűkítette az APD_{50} -et (plató fázis depressziót okozva) kutya Purkinje-roston. Ezek a hatások csökkenthetik a repolarizációs különbségeket a kamrában, hasonlóan az amiodaronhoz. Az SZV-270 még magas koncentrációkban sem befolyásolta az I_{K1} , I_{to} és $I_{Ca,L}$ áramokat nyúl jobb kamrai szívizomsejteken.

Az eredményeink alapján az SZV-270 kombinált I/B és III. osztályú antiaritmiás hatással rendelkezik. Miért előnyös ez a kombináció? A III. osztályba tartozó szerek megnyújtják a repolarizációt és az effektív refrakter periódust, így kiválóan alkalmasak a re-entry típusú aritmiák megszüntetésére. Azonban, a III. osztályba tartozó készítmények jelentős proaritmiás mellékhatással rendelkeznek: korai utódepolarizációt (EAD) képesek kiváltani, ennek következtében pedig TdP típusú polimorf kamrai tachycardia alakulhat ki. Az I/B osztályba tartozó készítmények azonban képesek csökkenteni az EAD-ok kialakulását, így meggátolva a tisztán III. osztályú szerek TdP ritmuszavart kiváltó hatását. Az I/B osztályba tartozó mexiletin és a III. osztályú sotalol meggátolta a kamrai tachyarrhythmiák kialakulását infarktusos kutyáknál. Luderitz és munkatársai szerint a mexiletin és a sotalol kombinációja hatékonyabban szüntette meg a kamrai ritmuszavarokat, mint ezen szerek önmagukban. Ezek az eredmények határozottan azt mutatják, hogy egy kombinált I/B és III. osztályú hatással rendelkező szer képes megelőzni a re-entry típusú ritmuszavarokat, miközben kisebb a TdP aritmia kiváltásának

kockázata.

Éber pitvarfibrillációs kutya modellen az SZV-270 szignifikánsan csökkentette a burst által kiváltható pitvarfibrilláció kialakulását, valamint megnövelte a pitvari effektív refrakter periódust. Kutya jobb pitvari trabekuláknál, az SZV-270 koncentrációfüggő módon megnövelte az APD₅₀, APD₇₅ és APD₉₀ értékeket. Az általunk vizsgált modellen az SZV-270 hatása hasonló volt a szelektív I_{Kr} gátló dofetilid hatásához, mely egy jól ismert szer a pitvarfibrilláció ritmus kontrolljában. Vizsgálatunkban a dofetilid szintén csökkentette a pitvarfibrilláció előfordulását, és növelte a pitvari effektív refrakter periódust, valamint megnyújtotta a repolarizációt pitvari átépüléssel rendelkező kutyákból izolált pitvari trabekulákon. A dofetilid előnyös hatásai pitvarfibrillációban a pitvari repolarizáció és a pitvari effektív refrakter periódus megnyújtásának tulajdoníthatóak. Az SZV-270 pitvarfibrilláció előfordulását csökkentő hatása valószínűleg szintén a szer pitvari repolarizációt megnyújtó hatásának eredménye.

3.2. Az iszkémiás prekondicionálás meggátolja a rofecoxib rejtett kardiotoxikus hatását

In vitro szimulált iszkémia/reperfúzió-s (sI/R) és szimulált iszkémiás prekondicionálásos (sIPC) kísérleteket végeztünk patkány bal kamrai papilláris izmon annak érdekében, hogy megvizsgáljuk a rofecoxibnak a szív akciós potenciáljára kifejtett hatását. A rofecoxib nem befolyásolta a vizsgált elektrofiziológiai paramétereket, az APD₉₀-et is beleértve, normoxiás körülmények között. Ahogy várható volt, 30 perces szimulált iszkémia hatására az APD₉₀ jelentősen csökkent a normoxiás körülmények közt mérthez képest. Azonban, sI/R mellett a rofecoxib koncentrációfüggő módon növelte az APD₉₀-et a 30 perces iszkémiát követő reperfúzió ideje alatt. Szimulált iszkémiás prekondicionálást követően a rofecoxib ezen hatása nem volt megfigyelhető. Eredményeink alapján, a rofecoxib tovább súlyosbíthatja a repolarizációs különbségeket a normoxiás és iszkémiás miokardium között, tovább növelve a ritmuszavar

kialakulásának esélyét iszkémia/reperfúzió esetén. A szimulált iszkémia (30 perc) következtében a CT megnőtt minden csoportban, míg a V_{max} jelentősen csökkent a rofecoxibbal kezelt csoportokban, mely eredmények arra utalnak, hogy a rofecoxib és a sI/R hatására csökkent a nátrium csatornák működése, tovább csökkentve az amúgy is lassult ingerületvezetést a depolarizált szívizomban. Ezek az adatok azt sugallják, hogy COX-2 gátlók kardiális mellékhatásai csupán iszkémia/reperfúzió alatt jelennek meg.

4. KÖVETKEZTETÉS ÉS ÚJ EREDMÉNYEK

1. Az SZV-270 jelentősen csökkentette a pitvarfibrilláció előfordulását és megnyújtotta a pitvari effektív refrakter periódust éber pitvarfibrillációs kutya modellen.

Az elektrofiziológiai vizsgálataink feltárták, hogy az SZV-270 kombinált I/B és III. osztályú hatása által fejti ki antiaritmiás hatását.

2. Kimutattuk, hogy a rofecoxib rejtett kardiotoxikus mellékhatása felfedhető iszkémai/reperfúzió modell alkalmazásával már a preklinikai kardiotoxicitási vizsgálatok során. Továbbá, az iszkémiás prekondicionálás kivédi a rofecoxib rejtett kardiotoxikus hatását *in vitro*. Eredményeink azt mutatják, hogy a kardiális biztonságossági vizsgálatok során, egyszerű iszkémia/reperfúzió modellek alkalmazásával felfedhetőek a rofecoxib – és talán más szerek – rejtett kardiotoxikus hatásai.

PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés alapját képező közlemények

Teljes terjedelmű közlemények

1. **Varga RS**, Hornyik T, Husti Z, Kohajda Zs, Krajsovszky G, Nagy N, Jost N, Virág L, Tálosi L, Mátyus P, Varró A, Baczkó I. Antiarrhythmic and cardiac electrophysiological effects of SZV-270, a novel compound with combined Class I/B and Class III effects, in rabbits and dogs. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2021, 99(1): 89-101. doi: 10.1139/cjpp-2020-0412; PMID: 32970956.

Impact Factor (2020) = 2.273, Q3 (Pharmacology - 168/769)

2. Brenner GB, Makkos A, CsT, Onódi Zs, Sayour NV, Gergely TG, Kiss B, Görbe A, Sággy É, Zádori ZS, Lázár B, Baranyai T, **Varga RS**, Husti Z, Varró A, Tóthfalusi L, Schulz R, Baczkó I, Giricz Z, Ferdinandy P. Hidden Cardiotoxicity of Rofecoxib Can be Revealed in Experimental Models of Ischemia/Reperfusion. *Cells*, 2020, 26;9(3):551. doi: 10.3390/cells9030551. PMID: 32111102.

Impact Factor (2020) = 6.6, Q1 (Medicine(Miscellaneous))

Megjelent absztraktok

1. **Varga R**, Hornyik T, Husti Z, Juhász V, Mátyus P, Varró A, Baczkó I. Antiarrhythmic and cardiac electrophysiological effects of SZV-270, a novel compound with combined Class I/B and Class III effects, in rabbits and dogs.

6th Meeting of European Section and 7th Meeting of North American Section of the International Academy of Cardiovascular Sciences (IACS), Kragujevac, Serbia (2019) p. 242

2. Husti Z, **Varga RS**, Brenner G, Bencsik P, Giricz Z, Görbe A, Shulz R, Varró A, Ferdinandy P, Baczkó I. Ischaemic

preconditioning prevents the hidden electrophysiological cardiotoxic effects of Rofecoxib

6th Meeting of European Section and 7th Meeting of North American Section of the International Academy of Cardiovascular Sciences (IACS), Kragujevac, Serbia (2019) p. 178 Paper: P38

3. Husti Z, **Varga R**, Brenner G, Bencsik P, Giricz Z, Görbe A, Shulz R, Varró A, Ferdinandy P, Baczkó I. The hidden electrophysiological cardiotoxic effects of rofecoxib are prevented by ischaemic preconditioning.

EUROPACE 21: Suppl. 2 pp. ii740-ii740. Paper: P602, 1 p. (2019)

4. Kiss B, Brenner G, Husti Z, **Varga RS**, Makkos A, Baczkó I, Görbe A, Giricz Z, Varró A, Ferdinandy P. A rofecoxib rejtett kardiotoxikus hatásának vizsgálata ex vivo és in vitro iszkémia/reperfúziós modellekben [Investigation of the hidden cardiotoxic effect of rofecoxib in ex vivo and in vitro simulated ischemia/reperfusion models]

CARDIOLOGIA HUNGARICA 49: Suppl.B pp. B26-B26. (2019)

Egyéb közlemények:

1. Kohajda Zs, Virág L, Hornyik T, Husti Z, Sztojkov-Ivanov A, Nagy N, Horváth A, **Varga R**, Prorok J, Szlovák J, Tóth N, Gazdag P, Topal L, Naveed M, Árpádfy-Lovas T, Pászti B, Magyar T, Koncz I, Déri Sz, Demeter-Haludka V, Aigner Z, Ördög B, Patfalusi M, Tálosi L, Tiszlavicz L, Földesi I, Jost N, Baczkó I*, Varró A*. In vivo and cellular antiarrhythmic and cardiac electrophysiological effects of desethylamiodarone in dog cardiac preparations. *British Journal of Pharmacology*, 2022, published online: Feb 1. doi: 10.1111/bph.15812.

IF (2020) = 8,739; D1 (Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics - 18/772)

2. Hézsó T, Khan MN, Dienes Cs, Kiss D, Prorok J, Árpádfy-Lovas T, Varga R, Fujii E, Mercan T, Topal L, Kistamás K, Szentandrassy N, Almássy J, Jost N, Magyar J, Bányász T, Baczkó I, Varró A, Nánási PP, Virág L, Horváth B. Mexiletine-like cellular electrophysiological effects of GS9667 in canine ventricular myocardium. *Scientific Reports*, 2021, 11: Article 9565. doi: 10.1038/s41598-021-88903-3. PMID: 33953276.

IF (2020) = 4.379, D1 (Multidisciplinary – 9/145)

3. Horváth B, Hézsó T, Szentandrassy N, Kistamás K, Árpádfy-Lovas T, **Varga R**, Gazdag, P, Veress R, Dienes Cs, Baranyai, D, Almássy J, Virág L, Nagy N, Baczkó I, Magyar J, Bányász T, Varró A, Nánási PP. Late sodium current in human, canine and guinea pig ventricular myocardium.

Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 2020, 139 pp. 14-23., 10 p. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.12.015>

IF (2020) = 5,0; Q1 (Cardiology and Cardiovascular Medicine – 49/317)

4. Kohajda Z, Farkas-Morvay N, Jost N, Nagy N, Geramipour A, Horvath A, **Varga R**, Hornyik T, Corici C, Acsai K, Horvath B, Prorok J, Ordog B, Déri Sz, Toth D, Levijoki J, Pollesello P, Koskelainen T, Otsomaa L, Toth A, Baczko I, Lepran I, Nanasi PP, Papp JG, Varro A, Virag L. The Effect of a Novel Highly Selective Inhibitor of the Sodium/Calcium Exchanger (NCX) on Cardiac Arrhythmias in In Vitro and In Vivo Experiments.

PLOS ONE, 2016 11 (11) e0166041. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166041>

IF (2016) = 2,806 Q1 (Multidisciplinary – 10/111)

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Nagy köszönettel tartozom **Professzor Dr. Varró Andrásnak**, hogy lehetővé tette a Ph.D. munkám elkészítését a Farmakológiai és Farmakoterápia Intézetben.

Külön köszönettel tartozom témavezetőmnek, **Dr. Baczkó Istvánnak** hasznos tanácsaiért, folyamatos támogatásáért.

Köszönöm munkatársaimnak, **Dr. Hornyik Tibornak**, **Dr. Husti Zoltánnak** és **Dr. Nagy Norbertnek** a folyamatos támogatást, a hasznos tanácsokat, és a segítséget a kísérletes munkákban. Köszönöm **Győrfiné Kosztka Máriának**, **Molnár Imréné Zsuzsának**, **Dobai Gábornak**, **Motzwickler Róbertnek** és **Girst Gábornak** a segítőkész technikai segítségnyújtást.

Külön köszönöm családomnak és barátaimnak, hogy odaadó szeretetükkel és folyamatos bátorításukkal támogattak.

A kutatómunkához nélkülözhetetlen anyagi forrásokat a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal biztosította (NKFIH-GINOP-2.3.2-15-2016-00040).