

NÉHÁNY NEM ANTIARITMIÁS SZER LEHETSÉGES PROARITMIÁS HATÁSAI

Dr. Pászti Bence József

Doktori értekezés összefoglaló



Szeged

2021

NÉHÁNY NEM ANTIARITMIÁS SZER LEHETSÉGES PROARITMIÁS HATÁSAI

Dr. Pászti Bence József

Doktori értekezés összefoglaló

Témavezetők:

Dr. Koncz István, PhD

Dr. Virág László

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Általános Orvostudományi Kar,

Szegedi Tudományegyetem

Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

Szeged

2021

A DISSZERTÁCIÓ TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

- I. **Paszi B**, Prorok J, Magyar T, Arpadffy-Lovas T, Gyore B, Topal L, Gazdag P, Szlovak J, Naveed M, Jost N, Nagy N, Varro A, Virag L, Koncz I. Cardiac electrophysiological effects of ibuprofen in dog and rabbit ventricular preparations: possible implication to enhanced proarrhythmic risk. *Can J Physiol Pharmacol.* 2021;99(1):102-9.
Impakt faktor: 1.946 (2019)
- II. Orvos P, **Paszi B**, Topal L, Gazdag P, Prorok J, Polyak A, Kiss T, Toth-Molnar E, Csupor-Löffler B, Bajtel A, Varro A, Hohmann J, Virag L, Csupor D. The electrophysiological effect of cannabidiol on hERG current and in guinea-pig and rabbit cardiac preparations. *Sci Rep.* 2020;10(1):16079.
Impakt faktor: 3.998 (2019)

A disszertáció témájához kapcsolódó publikációk impakt faktora: 5.944

EGYÉB PUBLIKÁCIÓK ÉS ABSZTRAKTOK LISTÁJA

- I. Magyar T, Arpadffy-Lovas T, **Paszi B**, Toth N, Szlovak J, Gazdag P, Kohajda Z, Gyokeres A, Gyore B, Gurabi Z, Jost N, Virag L, Papp JG, Nagy N, Koncz I. Muscarinic agonists inhibit the ATP-dependent potassium current and suppress the ventricle-Purkinje action potential dispersion. *Can J Physiol Pharmacol.* 2021;99(2):247-53.
Impakt faktor: 1.946 (2019)
- II. Tibor Magyar, **Bence Pászi**, Tamás Árpádfy-Lovas, András Gyökere, Zolt Gurabi, Norbert Jost, András Varró, László Virág, Charles Antzelevitch, István Koncz: Acetylcholine attenuates pinacidil-induced abbreviation of the action potential in canine cardiac Purkinje fibers and papillary muscles. EHRA International Congress, Lisbon, Portugal, 17-19 March 2019
- III. Árpádfy-Lovas Tamás, Magyar Tibor, **Pászi Bence**, Gurabi Zolt, Jost Norbert, Charles Antzelevitch, Varró András, Virág László, Koncz István: Az acetilkolin mérsékli a pinacidil akciós potenciál időtartamot rövidítő hatását kutya Purkinje-rostokon és papillaris izmokon. Magyar Élettani Társaság Vándorgyűlése, Szeged, 2018. 06. 27-30.

- IV. Zsolt Gurabi, Bence Patocskai, **Bence Pásztai**, Balázs Györe, László Virág, Péter Mátyus, Gyula Papp, András Varró, István Koncz: Different electrophysiological effects of the levo- and dextrorotatory isomers of mexiletine in isolated rabbit cardiac muscle. IACS 3rd European Section Meeting, Marseille, France, 1-4 Octobre 2016

Egyéb publikációk impakt faktora: 1.946

Összes publikáció impakt faktora: 7.89

1. Bevezetés

1.1. Kardiovaszkuláris betegségek epidemiológiája és a repolarizációs diszperzió

Az Egészségügyi Világszervezet jelentése alapján, a kardiovaszkuláris megbetegedések a halálozások vezető oka világszerte. A szív- és érrendszeri megbetegedésekben a hirtelen halál egyik leggyakoribb kiváltó okaként az aritmiák szerepelnek. Az antiaritmiás gyógyszerek használata értékes terápiás lehetőséget biztosít az aritmiák által okozott hirtelen szívhalál megelőzésében, habár számos antiaritmiás szer proaritmiás hatással is rendelkezik. Az antiaritmiás szerek mellett egyéb, nem kardiovaszkuláris indikációkkal használt gyógyszerek (pl.: makrolid antibiotikumok, antihisztaminok, gasztrointesztinális és központi idegrendszeri gyógyszerek) is kiválthatnak aritmiákat, mint mellékhatások.

Az aritmia a fiziológiás szívritmus vagy szívfrekvencia megváltozásaként definiálható. Alapvetően a megváltozott vagy kóros ingerképzés, illetve a kóros ingerületvezetés talaján alakulhatnak ki aritmiák. Az ibuprofén és kannabidiol (CBD) proaritmiás hatásainak celluláris mechanizmusait tekintvén, PhD disszertációmban a repolarizációs diszperzió okozta kóros ingerületvezetéssel foglalkozom részletesen. A repolarizációs diszperzió a különböző szívterületeken – epikardiális, midmiokardiális (M sejtek) és endokardiális részeken – megfigyelhető repolarizációs inhomogenitás következménye. Ezen repolarizációs heterogenitás különböző aritmiák (pl.: hosszú QT szindróma asszociált Torsades de Pointes kamrai ritmuszavar, kamrafiibrilláció) forrása lehet. A szerzett hosszú QT szindróma kialakulásának leggyakoribb oka a repolarizációt és az akciós potenciál időtartamát nyújtó gyógyszerek, például egyes antidepresszánsok (mirtazapin, citalopram), antipszichotikumok (klozapin, haloperidol) vagy gombaellenes szerek (flukonazol, ketokonazol) klinikai alkalmazása.

1.2. Repolarizációs rezerv

A repolarizációs rezerv az akciós potenciál (AP) kompenzatorikus képessége a repolarizációs zavar helyreállítására. Számos ionáram hozzájárul a repolarizációs rezerv fenntartásához úgy, mint a késői nátriumáram ($I_{Na,L}$), az L-típusú kalcium áram ($I_{Ca,L}$), a késői egyenirányító káliumáram gyors és lassú komponense (I_{Kr} , I_{Ks}), a befelé egyenirányító káliumáram (I_{K1}), tranziens káliumáram (I_{to}), nátrium-kálium pumpa ($I_{Na/K}$) és a nátrium-kalcium kicserélő (I_{NCX}) által létrehozott áramok. Fokozott $I_{Na,L}$ vagy $I_{Ca,L}$ esetén, a platófeszültség pozitív irányba tolódik, aktiválva az I_{Kr} áramot, mely rövidítve

a repolarizációt megakadályozza az AP időtartamának megnyúlását. Fiziológias körülmények között az I_{Kr} áramnál kisebb jelentőséget tulajdonítanak az I_{Ks} áramnak, azonban, ha az AP valamilyen oknál fogva megnyúlt, az I_{Ks} áram tölti be a rezerv funkcióját, megelőzve az aritmiák kialakulását. Az I_{K1} áram a nyugalmi membránpotenciál fenntartásában játszott szerepe miatt speciális helyet foglal el a repolarizációs rezerv kialakításában. I_{K1} gátlás következtében, egyrészt megnyúlik az akciós potenciál időtartama, mely fokozza a repolarizációs inhomogenitást, másrészt teret enged az akciós potenciál depolarizációjának, extraszisztolákat okozva, melyek kamrai aritmiák forrása lehet. Az I_{to} áram indirekt módon, az akciós potenciál amplitúdójának megváltoztatásával és így más ionáramok aktivációjának és deaktivációjának alternálásával vesz részt a repolarizációs rezerv fenntartásában.

Összeségében fontos megjegyezni, hogy a repolarizációs rezerv egy komplex, sérülékeny jelenség. A kialakításában részt vevő ionáramok gátlása vagy felerősítése (gyógyszerek vagy patológias körülmények hatására) a repolarizációs rezerv gyengüléséhez vezethetnek. A repolarizációs rezerv gyengülése hozzájárul a repolarizációs heterogenitás létrejöttéhez, ezáltal növelve a kamrai aritmiák kialakulási esélyét.

1.3. Nem-szteroid gyulladásgátlók proaritmiás hatásai

Nem-szteroid gyulladásgátlók (NSAID) az orvosok által széleskörben alkalmazott fájdalom- és lázcsillapító, gyulladáscsökkentő gyógyszerek. Az ibuprofén biztonságosabb szernek számít összehasonlítva egyéb „tradicionális” NSAID-okkal (paracetamol, aspirin) szemben. Az újabb, COX-2 szelektív szerekhez hasonló incidenciával okoz szimptomatikus gasztrointesztinális mellékhatásokat (pl.: diszpepszia, émelygés, hányás, székrekedés).

A közelmúltban megjelent cikkek alapján az ibuprofén kezelés szignifikánsan fokozhatja az aritmiák előfordulási arányát, illetve növelheti a szív-megállás kockázatát egyaránt. Egy esetbemutatásban, paracetamol és ibuprofén kombinált terápiás kezelésben részesült egy 13 éves beteg. A terápia elindítását követően a betegnél palpitáció jelentkezett, mely panaszok az ibuprofén leállítását követően megszűntek. Felmerült az ibuprofén és levofloxacin gyógyszerkombináció aritmogén, QT nyújtó hatása is egy 43 éves nő beteg kapcsán, akinél ájulás következett be a gyógyszerkombináció alkalmazásakor.

1.4. Kannabinoidok lehetséges proaritmias hatásai

A kannabisz világszerte az egyik leggyakoribb illegálisan alkalmazott szer, melynek legalizálása elősegíti a szerrel való visszaélést. A marihuána fő komponensei a kannabinoidok, ideértve pszichoaktív hatóanyagokat, mint a tetrahidrokannabinol (THC), illetve nem pszichoaktív hatóanyagokat, mint a kannabidiol (CBD), a kannabikromén (CBC) és a kannabigerol (CBG).

A CBD jótékony hatásait leírták miokardiális infarktus kísérletes modelleken, mely során a CBD csökkentette az infarktus nagyságát és a kamrai aritmiák kialakulását. Annak ellenére, hogy léteznek olyan gyógyszerkészítmények, melyek a CBD ismert mennyiségét tartalmazzák, a betegek körében egyre népszerűbbé válnak a daganatos betegségek, autizmus és epilepszia kezelésére a CBD-t tartalmazó „csodaszerek” (CBD olajok és egyéb étrendkiegészítők), melyeknél a fő problémát az jelenti, hogy ezen vény nélkül kapható készítmények CBD és/vagy THC tartalma nem pontosan ismert, fokozott kockázatnak kitéve egészségüket.

1.5. Célkitűzések

Ez idáig az ibuprofén és kannabidiol szívelektrofiziológiai hatásai nem kellően tisztázottak nagy testű állatmodelleken, melyek szív mérete és elektrofiziológiai tulajdonságai megközelítik a humán szívét. Ezen célból, PhD tanulmányom célja, az ibuprofén és kannabidiol által kiváltott szív elektrofiziológiai hatások vizsgálata tengerimalac, nyúl és kutya kamrai papilláris izom- és Purkinje-rost preparátumokon. A lehetséges proaritmias hatások kimutatására az akciós potenciál paraméterek közül a nyugalmi membránpotenciált (RMP), akciós potenciál amplitúdót (APA), a depolarizáció maximális sebességét ($V_{\max}$) és az akciós potenciál időtartamát 90, 75, és 50%-os repolarizációnál (APD_{90} , APD_{75} , APD_{50}) vizsgáltam *in vitro* kísérletes körülmények között.

2. Módszerek

2.1. Konvencionális mikroelektród technika

Konvencionális mikroelektród technika segítségével regisztráltuk nyúl, kutya és tengerimalac kamrai munkaizomrostokról és Purkinje-rostokról elvezett akciós potenciálokat. Kísérleteink során 10-15 kg súlyú Beagle fajtájú kutyákat, 2-3 kg súlyú New Zealand fajtájú nyulakat, illetve 600-800 g súlyú felnőtt tengerimalacokat használtunk. A preparátumokat szervfürdőben rögzítettük és Locke-oldattal perfundáltuk át. A kísérletek teljes ideje alatt a

preparátumokat 95% oxigént és 5% széndioxidot tartalmazó gázkeverékkel buborékolattuk. A pH-t 7,35 és 7,40 között, illetve a kád hőmérsékletét 37 °C-on tartottuk. A méréseket megelőzően a preparátumokat 1-2 órán át inkubáltuk, mely során a papilláris izomrostokat 1000 ms-os alap ciklushosszal, a Purkinje-rostokat 500 ms-os alap ciklushosszal ingereltük. Bipoláris platina elektródon keresztül, a preparátumokat 0,5-2 ms időtartamú négyszögimpulzusokkal (S_1) ingereltük, mely során a fiziológiás küszöbhez képest kétszeres küszöbértéket állítottunk be. A transzmembrán akciós potenciálokat 3 mol/l KCl oldattal feltöltött 10-20 M Ω ellenállású üvegkapilláris mikroelektródok segítségével regisztráltuk. A regisztrált akciós potenciálokat oszcilloszkóp (Hitachi V-555) ernyőjén jelenítettük meg. A regisztrált adatokat számítógépes rendszer (APES) segítségével elemeztük.

2.2. Protokollok és akciós potenciál paraméterek

Kísérleteink során teszt protokollok, ciklushosszfüggő protokollok és úgynevezett „recovery kinetic” protokollok mérésére került sor. A protokollok során az alábbi paraméterek mérése és értékelése történt kontroll körülmények esetén, illetve szer hatása alatt: nyugalmi membránpotenciál (RMP), akciós potenciál amplitúdó (APA), depolarizáció maximális sebessége (V_{max}) és az akciós potenciál időtartama 90%-os, 75%-os és 50%-os repolarizációnál (APD₉₀, APD₇₅, APD₅₀). A szerhatásokat az adott koncentrációjú ibuprofén vagy kannabidiol 30 perces expozíciója után mértük. A törzsoldatok készítése során a szereket DMSO-ban oldottuk, a törzsoldatok koncentráció 25 mmol/l (ibuprofén) és 10 mmol/l (kannabidiol) voltak.

2.3. Statisztikai analízis

Az adatok (számtani átlag $\pm$ standard error of the mean [S.E.M.]) statisztikai elemzése Student-féle páros t-próbával, illetve ismételt mérések varianciaanalízist (ANOVA) követő Bonferroni korrekcióval történt. Az APD₉₀ restitúciós görbék időállandójának meghatározásánál monoexponenciális egyenletet alkalmaztunk. Szignifikáns eltérésnek vettük, ha p-érték kisebb volt, mint 0,05 ($p < 0,05$), illetve szuperszignifikánsnak, ha a p-érték kisebb volt, mint 0,01 ($p < 0,01$). A kísérletek során az elemszámot „n”-nel jelöltük.

3. Eredmények

3.1. Az ibuprofén szívelektrofiziológiai hatásainak vizsgálata

3.1.1. Ibuprofén hatásai kamrai papilláris izomrostok transzmembrán akciós potenciál paramétereire

Nyúl kamrai papilláris izomrost preparátumokon, az ibuprofén $100\text{ }\mu\text{M}$ koncentrációban enyhén, de szignifikáns módon növelte az APD_{90} értéket $163.5 \pm 11.1\text{ ms}$ -ről $168.5 \pm 11.0\text{ ms}$ -ra ($n = 7$, $p < 0.05$) és az APD_{75} értéket $149.4 \pm 10.1\text{ ms}$ -ről $155.7 \pm 10.9\text{ ms}$ -ra ($n = 7$, $p < 0.05$). Kutya jobb kamrai papilláris izomrostokon, az ibuprofén magasabb terápiás dózisban ($200\text{ }\mu\text{M}$), az APD_{90} értékét $4.3 \pm 1.0\%$ -kal ($n = 6$; $p < 0.01$) és az APD_{75} értékét $4.5 \pm 1.3\%$ -kal ($n = 6$; $p < 0.05$) növelte. Humán kamrai preparátumokon sem alacsony ($50\text{ }\mu\text{M}$), sem magasabb ($150\text{ }\mu\text{M}$) terápiás dózisban nem növelte jelentősen az akciós potenciál időtartamát ($n = 4$), illetve az egyéb akciós potenciál paraméterekre sem volt szignifikáns hatással.

3.1.2. Az ibuprofén hatásai kutya Purkinje-rostok transzmembrán akciós potenciál paramétereire:

Az ibuprofén (50 és $200\text{ }\mu\text{M}$ koncentrációkban egyaránt) dóziszfüggő módon $1.1 \pm 0.3\%$ -kal ($50\text{ }\mu\text{M}$; $n = 6$, $p < 0.05$), illetve $4.5 \pm 0.7\%$ -kal ($200\text{ }\mu\text{M}$; $n = 7$, $p < 0.01$) szignifikánsan csökkentette az APD_{90} értéket. A szer az APD_{75} értéket $50\text{ }\mu\text{M}$ koncentrációban $225.9 \pm 9.3\text{ ms}$ -ről $224.1 \pm 9.0\text{ ms}$ -ra ($n = 6$), míg $200\text{ }\mu\text{M}$ koncentrációban $226.6 \pm 12.3\text{ ms}$ -ről $217.8 \pm 12.2\text{ ms}$ -ra ($n = 7$, $p < 0.01$) csökkentette. Egyéb mért paraméterekben (RMP, APA, $V_{\max}$) szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk. Mindemellett, kutya Purkinje-rostokon végzett ciklushosszfüggő protokollok során, az ibuprofén ($200\text{ }\mu\text{M}$) frekvenciafüggő módon csökkentette a $V_{\max}$ értéket gyors ciklushosszok esetén, és rövidítette az akciós potenciál időtartamát lassú frekvenciákon.

3.1.3. Ibuprofén kombinációk elektrofiziológiai hatásai

3.1.3.1. Ibuprofén és levofloxacin kombináció hatásai nyúl jobb kamra papilláris munkaizomrost preparátumokon

Az ibuprofén és levofloxacin gyógyszerkombináció elektrofiziológiai hatásait nyúl jobb kamrai papilláris izomrostokon vizsgáltuk kumulatív módon. Az ibuprofén ($100\text{ }\mu\text{M}$ koncentrációban) szignifikánsan, $3.1 \pm 1.1\%$ -kal ($n = 7$, $p < 0.05$) növelte az APD_{90} értéket és $4.2 \pm 1.5\%$ -kal ($n = 7$, $p < 0.05$) az APD_{75} értéket. A levofloxacin önmagában, $40\text{ }\mu\text{M}$ koncentrációban nem váltott ki elektrofiziológiai hatást az akciós potenciál paraméterekre (RMP, APA, $V_{\max}$, APD_{90} , APD_{75}), de a szer, $100\text{ }\mu\text{M}$ ibuprofén előkezelést

követően, $7.5 \pm 2.4\%$ -kal ($n = 7$, $p < 0.05$) felerősítette az akciós potenciál időtartamának prolongációját. Az APD_{90} érték mellett az APD_{25} érték $15.0 \pm 5.2\%$ -kal ($n = 7$, $p < 0.05$) és az APD_{10} érték $24.8 \pm 10.5\%$ -kal ($n = 7$, $p < 0.05$) fokozódott.

3.1.3.2. Ibuprofén és acetilkolin kombináció hatásai kutya Purkinje-rost preparátumokon

Kutya Purkinje-rost preparátumokon vizsgáltuk az ibuprofén elektrofiziológiai hatásait előzetesen acetilkolinnal létrehozott fokozott vagus tónus esetén 500 ms alap ciklushossznál. Acetilkolin előkezelés hatására az APD_{90} érték $4.1 \pm 2.3\%$ -kal ($n = 6$), az APD_{75} érték $4.2 \pm 2.1\%$ -kal ($n = 6$), nem szignifikáns módon megnőtt. Az ily módon megnyúlt akciós potenciál időtartamát az ibuprofén ($50 \mu\text{M}$ koncentrációban) szignifikáns módon visszarövidítette (APD_{90} érték $3.3 \pm 0.6\%$ -kal [$n = 6$, $p < 0.01$]; APD_{75} érték $3.2 \pm 1.0\%$ -kal [$n = 6$, $p < 0.05$] csökkent).

3.2. A kannabidiol (CBD) szívelektrofiziológiai hatásainak vizsgálata

3.2.1. A kannabidiol hatásai kamrai papilláris izomrostok transzmembrán akciós potenciál paramétereire

Tengerimalac jobb kamrai papilláris izomrost preparátumokon végzett kísérletek során, a CBD-t $2,5$ és $5 \mu\text{M}$ koncentrációkban vizsgálva megállapítottuk, hogy a szer mindkét koncentrációban enyhén, de szignifikáns módon növelte az APD_{90} értéket: $2,5 \mu\text{M}$ esetén $3.2 \pm 0.4\%$ -os ($n = 5$, $p < 0.01$), illetve $5 \mu\text{M}$ esetén $6.3 \pm 2.1\%$ -os ($n = 5$, $p < 0.05$) növekedést tapasztaltunk. A $2,5 \mu\text{M}$ koncentrációjú CBD, az APD_{90} érték mellett, szignifikánsan, $3.1 \pm 0.4\%$ -kal ($n = 5$, $p < 0.01$) az APD_{75} , $3.5 \pm 0.5\%$ -kal ($n = 5$, $p < 0.01$) az APD_{50} és $3.9 \pm 1.1\%$ ($n = 5$, $p < 0.05$) az APD_{25} értékeket egyaránt növelte. Ciklushosszfüggő protokoll méréseink alapján elmondható, hogy a szer AP időtartamát nyújtó hatása frekvenciafüggő módon, gyors szívfrekvenciák esetén jobban érvényesült.

Nyúl jobb kamrai papilláris izomrostok esetén a CBD-t $1, 2, 5, 5$ és $10 \mu\text{M}$ koncentrációkban vizsgáltuk. Eredményeink alapján elmondható, hogy a CBD alacsony dózisokban ($1-5 \mu\text{M}$ koncentrációkban) dózisfüggő módon, szignifikánsan megemelte az APD_{90} paramétert. $1 \mu\text{M}$ esetén $3.0 \pm 1.0\%$ -os ($n = 5$, $p < 0.05$), $2,5 \mu\text{M}$ esetén $6.8 \pm 3.0\%$ -os ($n = 7$, $p < 0.05$), $5 \mu\text{M}$ esetén $6.8 \pm 1.6\%$ -os ($n = 5$, $p < 0.05$) APD_{90} érték növekedést tapasztaltunk. Az APD_{75} paraméter, az APD_{90} értékhez hasonlóan változott: $1 \mu\text{M}$ esetén $4.0 \pm 1.1\%$ -os ($n = 5$, $p < 0.05$), $2,5 \mu\text{M}$ esetén $7.4 \pm 3.2\%$ -os ($n = 7$, $p < 0.05$), míg $5 \mu\text{M}$

esetén valamivel kisebb mértékű $7.0 \pm 2.3\%$ -os ($n = 5$, $p < 0.05$) értéknövekedés volt mérhető. Néhány kísérletben (1 és $2,5 \mu\text{M}$ koncentrációk esetén) az akciós potenciál „háromszögesedése” volt megfigyelhető, azonban szignifikáns eltérést az APD_{90} - APD_{25} értékben nem tapasztaltunk. Magas koncentrációban ($10 \mu\text{M}$) a CBD a repolarizációra kifejtett változékony hatásainak (egyes kísérletekben repolarizáció nyújtás, más kísérletekben repolarizáció rövidülés volt megfigyelhető) következtében szignifikáns eltérés nem volt detektálható az APD_{90} és APD_{75} értékekben. A CBD $2,5 \mu\text{M}$ koncentrációban mért APD_{90} értéket nyújtó hatása frekvenciafüggőnek bizonyult: a prolongáció főként alacsony ciklushosszú (300 - 1000 ms) ingerlés mellett érvényesült, magasabb ciklushosszok esetén a hatás fokozatosan csökkent.

Kutya jobb kamrai papilláris izomrost preparátumokon a CBD-t két koncentrációban ($2,5 \mu\text{M}$ és $5 \mu\text{M}$) vizsgáltuk. Alacsony koncentrációban ($2,5 \mu\text{M}$) enyhén emelte az APD_{90} (mértéke: $6.2 \pm 3.2\%$; $n = 5$) és az APD_{75} (mértéke: $6.5 \pm 3.5\%$; $n = 5$) paramétereket egyaránt. Magasabb koncentrációban ($5 \mu\text{M}$) a CBD AP időtartamát nyújtó hatása jobban érvényesült: az APD_{90} érték $10.2 \pm 3.7\%$ -kal ($n = 5$, $p < 0.05$), míg az APD_{75} érték $11.4 \pm 4.3\%$ -kal ($n = 5$, $p < 0.05$) nőtt meg.

3.2.2. A kannabidiol hatásai kutya Purkinje-rostok transzmembrán akciós potenciál paramétereire

A CBD dózisfüggő módon szignifikánsan megnövelte a kutya Purkinje-rost preparátumokon mért AP APD_{90} értékét: $0,3 \mu\text{M}$ esetén 222.1 ± 7.5 ms-ról 227.4 ± 7.7 ms-ra ($n = 6$, $p < 0.01$) és $1 \mu\text{M}$ esetén 229.7 ± 8.5 ms-ra ($n = 6$, $p < 0.05$). Az APD_{75} érték szintén szignifikánsan változott 202.3 ± 7.2 ms-ról 207.3 ± 7.8 ms-ra ($n = 6$, $p < 0.05$) $0,3 \mu\text{M}$ CBD alkalmazása esetén. A koncentrációt $3 \mu\text{M}$ -ra növelve az AP paraméterek értékei tovább növekedtek (APD_{90} : 233.8 ± 9.2 ms-ra; APD_{75} : 212.9 ± 8.6 ms-ra), azonban ezekben az esetekben szignifikanciát nem tapasztaltunk. Az egyéb AP paraméterekben (RMP, APA, V_{max}) jelentős változást nem figyeltünk meg.

Kutya Purkinje-rostokon végzett kísérleteinkben vizsgáltuk a CBD ($3 \mu\text{M}$ koncentrációjú) hatásait az APD_{90} restitúciós kinetikára. Méréseink során 500 ms-os alap ciklushosszú ingerlés (S_1) alkalmazása mellett extra stimulussal (S_2) korai ütések indukáltak. Az alap (S_1) és extra (S_2) stimulusok közötti kapcsolási időt (diasztolés intervallumot; DI) fokozatos emeltük. Az így kapott APD-DI (restitúciós) görbék τ értékét a CBD 317.4 ± 38.0 ms-ról 431.2 ± 48.6 ms-ra ($n = 5$) változtatta meg.

4. Megbeszélés

4.1. Ibuprofén szívelektrofiziológiai hatásainak vizsgálata

Az ibuprofén világszerte széleskörben használt nem-szteroid gyulladáscsökkentő (NSAID) vegyület, melynek indikációi közé elsősorban a fájdalom- és lázcsillapítás, valamint gyulladáscsökkentés tartozik. Kardiiovaszkuláris rizikója relatívan alacsony a többi NSAID-hoz viszonyítva, azonban az újabb COX-2 szelektív NSAID-ok (pl.: rofecoxib, valdecoxib) esetén kimutatott magasabb szív- és érrendszeri rizikó miatt a „hagyományos” NSAID-ok újbóli rizikófelmérése válhat szükséggé. Ezen célból 2015-ben, az Európai Gyógyszerügynökség a magas dózisú ibuprofén kardiiovaszkuláris kockázatának felülvizsgálatát is indítványozta.

4.1.1. Ibuprofén okozta akciós potenciál változások és azok lehetséges mechanizmusai

Egy korábban végzett tanulmányban, mely az ibuprofén tengerimalac kamrai papilláris munkaizomrost preparátumokon kifejtett szívelektrofiziológiai hatásait vizsgálta, kimutatták, hogy a szer 5, 10, 20, 40 és 80 $\mu\text{g/ml}$ dózisban, dózisfüggő módon rövidítette az AP időtartamát és az effektív refrakter periódust (ERP), továbbá frekvenciafüggő módon mérsékelte a $V_{\max}$ értékét. A tanulmányban megállapították, hogy az ibuprofén spontán automáciával rendelkező nyúl szinusz csomóban, dózisfüggő módon csökkentette a szívfrekvenciát, a spontán depolarizáció sebességét és a $V_{\max}$ értéket egyaránt. *In vivo* és *in vitro* kísérleteik során regisztrált EKG felvételeken a szer jelentősen nyújtotta a QRS komplexumot és RR távolságot, habár a QTc csökkent. Néhány kísérletben korai kontrakciók és kamrafibrilláció jelentkezett, melyek ibuprofén kimosást követően elmúltak. Ezen megfigyelésekből arra a következtetésre jutottak, hogy az ibuprofén gátolhatja a feszültségfüggő Na^+ -csatornákat és Ca^{2+} -csatornákat.

Eredményeink részben megegyeznek a korábbi tanulmányban publikált eredményekkel: megerősítettük az ibuprofén által kiváltott frekvenciafüggő $V_{\max}$ és APD depressziót kutya Purkinje-rostokon. Ezzel ellentétben a korábbi tanulmánytól eltérően kísérleteink során az ibuprofén magas terápiás koncentrációban prolongálta az AP időtartamát nyúl és kutya papilláris izomrostokon, mely hatás humán kamrai preparátumokon nem volt megfigyelhető. Teljes sejt patch-clamp technikával végzett kísérletekben az ibuprofén mérsékelt, de szignifikáns mértékben gátolta a késői nátriumáramot ($I_{\text{Na,L}}$) és az L-típusú kalcium áramot ($I_{\text{Ca,L}}$). Az $I_{\text{Na,L}}$ és $I_{\text{Ca,L}}$ áramokra kifejtett gátló hatás mellett az ibuprofén szintén mérsékelt, bár

szignifikáns mértékben gátolta a tranziens káliumáramot (I_{to}) és a késői egyenirányító káliumáram gyors komponensét (I_{Kr}).

Az egymásnak ellentmondó eredmények ellenére az ibuprofén által kiváltott repolarizációt befolyásoló eredő hatás függ, többek közt az ionáramok megoszlásának különbségeitől. Tengerimalac kamrai miocitákban nincs I_{to} áram expresszió, továbbá a késői egyenirányító káliumáram lassú komponense (I_{Ks}) nagyobb szerepet játszik a repolarizáció kialakításában, mint az I_{Ks} áram nyúl, kutya vagy human kamrai preparátumokon. Következésképpen tengerimalac preparátumokon az I_{to} és I_{Kr} gátlás kevésbé kifejezett hatással bír az AP repolarizációra, illetve az ibuprofén által kiváltott $I_{Na,L}$ és $I_{Ca,L}$ gátlásnak kifejezettebb hatása érvényesülhet, rövidítve az AP repolarizációt. Purkinje-rostokon végzett kísérleteinkben, a relatívan nagyobb $I_{Na,L}$ és alacsonyabb I_{Kr} denzitás következtében, az ibuprofén az AP repolarizációjának rövidülését okozta. Ezzel szemben, nyúl és kutya kamrai izomrostokon, az ibuprofén AP repolarizációt nyújtó hatása a relatívan magasabb I_{to} és I_{Kr} áramok expressziójának tudható be. Továbbá, az I_{Kr} és I_{to} áramok fontos szerepet játszanak a repolarizációs rezerv kialakításában, ezért ezen áramok farmakológiai blokkolása gyengíti a rezerv funkciót.

4.1.2. Az ibuprofén és levofloxacin kombináció proaritmias kockázata

A mindennapi orvosi gyakorlatban az NSAID és antibiotikum gyógyszerek egyidejű szedése gyakran javallott, ugyanis szinergista hatásuk növelheti a baktériumok ellenes hatást. Munkánk során, a fluorokinolon antibiotikumok közül a levofloxacin került kiválasztásra, melynek oka a relatívan alacsony proaritmias rizikó. Korábbi elektrofiziológiai tanulmányok alapján a levofloxacin nincs hatással az AP időtartamára tengerimalac kamrai miocitákon és nyúl Purkinje-rost preparátumokon.

Kísérleteinkben az esettanulmányok alapján felmerült ibuprofén-levofloxacin kombináció esetleges proaritmias kockázatának felmérését tűztük ki célul. Önmagában alkalmazva, a levofloxacin az AP paraméterekben (APD, APA, V_{max} , RMP) nem okozott jelentős változást, azonban ibuprofén előkezelés után adva az antibiotikumot, jelentősen fokozta az ibuprofén által létrehozott AP időtartam prolongációt. Feltehetően a levofloxacin gátolja az úgynevezett „human ether-a-go-go-related gene” (hERG) csatornákat, ezáltal az antibiotikus hERG csatornát gátló és az ibuprofén I_{Kr} gátló additív hatása fokozott AP időtartam megnyúláshoz vezetett. Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy gyógyszerek együttes adásakor az AP időtartamot nyújtó hatás, a repolarizációs rezerv gyengítése révén, felerősödhet, annak

ellenére, hogy külön-külön alkalmazva a farmakonokat jelentős AP prolongációt nem tapasztalunk. Fontos megjegyezni, hogy egyes patológias folyamatokban (pl.: szívelégtelenség, iszkémiás szívbetegség vagy hipertrófiás kardiomiopátia) a repolarizációs reverz eleve gyengült volta miatt az alkalmazott gyógyszerek a repolarizáció további megnyúlását okozhatják, kamrai aritmiákat vagy hirtelen szívhalált indukálva.

4.1.3. Az ibuprofén szívhatásainak egyéb lehetséges mechanizmusa

A szívritmus részben a különböző eikozanoidok közötti egyensúly által is szabályozott. Az ibuprofén direkt ionáramokra kifejtett hatásain túl, a prosztanoidok termelődésének csökkentésén keresztül is kifejezheti az aritmiák kialakulását befolyásoló szívhatásait.

Korábbi tanulmányokban végzett kísérletek alapján a bal pitvarba fecskendezett tromboxán A_2 (TXA_2) kamrai aritmiák megjelenését indukálta. Prosztagliclin (PGI_2) hatásait vizsgálva megfigyelték, hogy a PGI_2 csökkentette a kamrai aritmiák megjelenését kutya hirtelen szívhalál modelljein, továbbá a PGI_2 antiaritmiás tulajdonságokkal rendelkezik akonitin-indukált aritmiák esetén patkány modellen. Kutya altatott állatmodelleken a PGI_2 szignifikáns mértékben csökkentette a korai utódepolarizáció amplitúdóját és a kamrai tachykardia prevalenciáját, habár betegekben pitvari és kamrai szívfrekvenciát fokozó hatását is megfigyelték. Prosztaglandin E_2 (PGE_2) profilaktikus alkalmazása esetén csökkenti a katekolamin-indukálta aritmiák súlyosságát 37%-kal (összehasonlítva, propranolol: 91%, ajmalin: 34%), illetve dózisfüggő módon csökkenti a korai kamrai ütés és a gyógyszer-okozta TdP kamrai ritmuszavar incidenciáját. A proszttaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) hatásairól szóló eredmények ellentmondásosak a szakirodalomban. Altatott macska modellen vizsgált $PGF_{2\alpha}$ aritmogén hatása a szív paraszimpatikus beidegzésétől függ: nem-vagotomizált macskák esetén a $PGF_{2\alpha}$ csökkenti az ouabain-indukálta aritmiák prevalenciáját, míg vagotomizált macskák esetén súlyosbítja azokat. Atropinnal történő előkezelést követően a $PGF_{2\alpha}$ antiaritmiás hatásai megszűntek, és proaritmiás hatásai kerültek előtérbe a nem-vagotomizált macskáknál egyaránt. Kísérletes körülmények között, izolált patkány szív modellen alkalmazott acetilkolin (ACh) és karbakol (CCh) pozitív inotróp hatással, izolált egér bal pitvaron bifázisos – átmeneti negatív, később pozitív – inotróp hatással rendelkeznek. A kontraktilitást növelő hatásban nagy szerepük van a 3-as típusú muszkarinos acetilkolin receptorok aktiválta COX-2 enzimeknek. Mindemellett, az ACh, $PGF_{2\alpha}$ és PGD_2 akciós potenciál időtartamát nyújtó hatásait is kimutatták.

A muszkarin receptor agonisták és COX enzim inhibitorok közötti kölcsönhatás vizsgálatának céljából, az ibuprofén acetilkolinnal történő előkezelést követő hatásait vizsgáltuk kutya Purkinje-rost preparátumokon. Eredményeink alapján megállapítható, hogy az acetilkolin előkezelés hatására az APD₉₀ és APD₇₅ paraméterek növekedése volt tapasztalható, mely értékeket az ibuprofén a kontrollhoz közeli értékekhez csökkentette vissza. Megjegyzendő, hogy az acetilkolin előkezelést követő ibuprofén hatás mértéke nagyobbak bizonyult, mint az előkezelés nélküli ibuprofén hatás. Megfigyeléseinkből arra következtethetünk, hogy a paraszimpatikus túlsúly képes lehet megváltoztatni az ibuprofén szívelektrofiziológiai hatásait, mely jelzi az ibuprofén által kiváltott szívhatások komplex mechanizmusait.

4.2. Kannabidiol szívelektrofiziológiai hatásainak vizsgálata

A kannabidiolt (CBD) tartalmazó vény nélkül kapható készítmények manapság egyre nagyobb népszerűsége tettek szert a lakosság körében annak ellenére, hogy az ilyen készítmények CBD tartalma általában nem pontosan ismert. 2018-ban az amerikai Élelmiszer- és Gyógyszer Engedélyeztetési Hivatal (FDA) jóváhagyta az Epidiolex nevű CBD hatóanyagtartalmú készítményt, mely többek közt például Lennox-Gastaut szindróma vagy Dravet-szindróma terápiájára alkalmazható. A CBD előnyös hatásai figyelhetők meg emellett Alzheimer betegségben, Parkinson kórban, szklerózis multiplexben, pszichózisban, szorongásban vagy krónikus fájdalom esetén egyaránt, továbbá kísérletes körülmények között miokardiális infarktusbán, kardiomiopátiában, illetve miokarditisz esetén. Krónikus alkalmazás során, 1500 mg/nap maximális dóziséig, a szer jól tolerált, habár egyéb gyógyszerek hepatikus metabolizmusával kölcsönhatásba léphet. Annak ellenére, hogy a CBD egyre szélesebb körben alkalmazott hatóanyag, szívre gyakorolt hatásai nem kellő mértékben tisztázottak. In vitro körülmények között végzett kísérleteink során a CBD lehetséges szív elektrofiziológiai hatásainak megismerését tűztük ki célul.

4.2.1. A kannabidiol szív akciós potenciál paraméterekre gyakorolt hatásai

Tengerimalac, nyúl és kutya papilláris izom és Purkinje-rost preparátumokon végzett kísérleteink a CBD AP időtartamát nyújtó hatását igazolják. Tengerimalac és kutya kamrai papilláris izomrostokon a szer (2,5 μ M és 5 μ M koncentrációkban) dóziszfüggő módon prolongálta az AP időtartamát, mialatt az egyéb mért akciós potenciál paraméterek (APA, RMP, V_{max}) nem változtak számottevően. Nyúl papilláris izomrostokon a CBD-t 1,

2,5, 5 és 10 μM koncentrációkban vizsgáltuk. A szer 1-5 μM koncentráció tartományban fokozatosan nyújtotta az AP időtartamot, de 10 μM koncentrációban az AP időtartam prolongáció nem volt megfigyelhető. Magas koncentrációban (10 μM) a szer egyes kísérletekben a repolarizáció megnyúlását, egyes kísérletekben a repolarizáció rövidülését okozta, melynek hátterében a szer összetett ioncsatoma hatásai feltételezhetők. Az APD paramétert növelő hatás tengerimalac és nyúl papilláris izomrostokon frekvenciafüggőnek bizonyult: a prolongáció gyorsabb frekvenciákon nagyobb mértékű volt, mint lassú frekvenciák esetén. A CBD szívelektrofiziológiai hatásait kutya Purkinje-rost preparátumokon is megvizsgáltuk, mely során a szer dózisfüggő módon növelte az AP időtartamot 0,3, 1 és 3 μM koncentrációkban.

Eredményeinktől eltérően, nyúl Purkinje-rost preparátumokon korábban végzett kísérletek alapján, a CBD alacsony koncentrációban (0,3 μM) nem befolyásolta szignifikáns mértékben az akciós potenciál paramétereit (APD, V_{max} , RMP, APA), 15, 60, illetve 180 ütés/perc frekvenciákon, azonban magasabb koncentrációkban (3 és 10 μM esetén) dózisfüggő módon csökkentette az AP időtartamát (APD₅₀ és APD₉₀) mindhárom frekvencia esetén, mely hatások megmaradtak a CBD kimosását követően is. Ezenfelül 10 μM koncentrációjú CBD csökkentette az AP amplitúdóját és V_{max} értékét 60, illetve 180 ütés/perc frekvenciákon, és növelte a nyugalmi membránpotenciál értékét 180 ütés/perc frekvencia esetén.

Munkánk során vizsgáltuk a 3 μM koncentrációban alkalmazott CBD hatást az APD restitutionós kinetikára kutya Purkinje-rost preparátumokon 500 ms-os alap ciklushossz esetén. Eredményeink alapján elmondható, hogy a CBD növelte az AP időtartamát, illetve lassította a restitutionós görbe kinetikát. Alapvetően az APD restitutionós kinetika a különböző kapcsolási idővel kiváltott extraszisztolék iránti adaptációs folyamat. A kapcsolási idő növelésével az extraszisztolét követő AP időtartama fokozatosan nő. A restitutionós görbe meredekségének csökkenése, az AP hullám propagáció megállásának megelőzése következtében antiaritmiás hatású. Ezzel szemben, a görbe meredekségének fokozódása proaritmiás tulajdonságú, az AP hullám propagációjának megállásán keresztül kamrai fibrilláció kialakulását okozhatja. A restitutionós görbe meredekségének fő meghatározó tényezője az extraszisztolét megelőző AP időtartamának hossza, mely a repolarizációt eredményező ionáramoktól függ. A CBD, az APD restitutionós görbe meredekségének csökkentésével csökkentheti a proaritmiás következmények

kialakulását és megelőzheti az extraszisztolék által indukált kamrafibrilláció kialakulását.

4.2.2. A kannabidiol szív ioncsatornákra gyakorolt hatásai

Az endokannabinoidok és szintetikus kannabinoidok mellett a kannabidiol is képes számos transzmembrán ioncsatorna funkciójának befolyásolására. A CBD stimulálja a nem-szelektív kationcsatornák közül a tranziens receptor potenciál vanilloid receptorok (TRPV1, TRPV2 és TRPV3) és a tranziens receptor potenciál ankirin 1 receptorokat (TRPA1), míg gátolja a tranziens receptor potenciál melasztatin 8 receptorokat (TRPM8), melyek hozzájárulnak a szer antiepileptikus, analgetikus, anti-inflammatorikus és tumorelles hatásaihoz. Egy korábban végzett tanulmány megállapította, hogy a CBD gátolja az I_{Na} , $I_{Na,L}$, $I_{Ca,L}$, I_{to} , I_{Kr} , és I_{Ks} ionáramokat, de nincs hatással az I_{K1} csatornákra kínai hörcsög petefészek (CHO) és humán embrionális vese (HEK) sejtvonalakon. Ugyanezen tanulmány szerint a leggyengébb gátló hatás a $K_v11.1$ (hERG) csatornákon (IC_{50} érték: $15 \mu M$), míg a legerősebb gátló hatás a $K_v7.1$ csatornákon (IC_{50} érték: $2,7 \mu M$) volt megfigyelhető CHO sejtvonalon.

Teljes sejt patch-clamp technika segítségével nyúl ventrikuláris papilláris izomsejteken a CBD gátolta az I_{Kr} áramot, hozzájárulva az AP repolarizáció megnyúlásához. Ezenfelül a CBD ($10 \mu M$ koncentrációban) szignifikánsan gátolta az $I_{Na,L}$ és $I_{Ca,L}$ ionáramokat egyaránt. HEK 293 sejtvonalon, a szer gátló hatás fejtett ki a hERG kálium csatornákra (IC_{50} érték: $2.07 \pm 0.12 \mu M$). Eredményeink alapján megállapítható, hogy alacsony koncentrációban ($1, 2,5$, és $5 \mu M$ esetén), az I_{Kr} és I_{Ks} gátlás lehet felelős az AP időtartamának megnyúlásáért, mely hatást magas koncentrációban ($10 \mu M$) az $I_{Ca,L}$ és $I_{Na,L}$ gátlás kompenzálhat nyúl kamrai miocitákon.

4.2.3. Klinikai összefüggések

Összehasonlítva a gyógyszerek hERG csatornákra kifejtett aktivitását, AP időtartam nyújtó és QT prolongációt okozó hatását a Torsades de Pointes (TdP) aritmia előfordulásával, felmérhető a TdP kamrai aritmia kialakulásának várható kockázata. A vizsgálatok alapján megállapították, hogy egy szer hERG csatormán mért IC_{50} értéke és az átlagos maximális plazma koncentrációja (C_{max}) között legalább 30-szoros különbség szükséges ahhoz, hogy az aritmogén következmények elkerülhetők maradjanak. Humán farmakokinetikai adatok alapján a CBD C_{max} értéke 400 mg és 800 mg per os szerbeadást követő 3 órával: $0,58 \mu M$ (400 mg) és $0,7 \mu M$ (800 mg); míg $19,2$

mg CBD-t tartalmazó cigaretta elszívását követően: $0,35 \mu\text{M}$ volt. Kísérleteink során a hERG csatorna gátlás IC_{50} értéke $2,07 \mu\text{M}$ -nak, I_{Kr} gátlás IC_{50} értéke $6,5 \mu\text{M}$ -nak bizonyultak nyúl kamrai miocitákon. Az így kapott IC_{50} és C_{max} arány $2,96$ – $18,57$ közötti érték, mely a CBD proaritmias kockázatát fejezheti ki klinikai alkalmazás esetén. A CBD egyéb transzmembrán ioncsatornákra kifejtett hatásai tovább módosíthatják az AP időtartamát nyújtó hatást, mely a proaritmias rizikó fokozásához vezethet. Fontos megjegyezni, hogy a szer C_{max} értékét egyéb tényezők is befolyásolják, mint például krónikus betegségek vagy gyógyszer kölcsönhatások (pl.: ketokonazol, amiodaron, verapamil, cimetidin), tovább növelve az aritmogenezis rizikóját. A CBD-t egyéb repolarizációt nyújtó gyógyszerekkel együtt alkalmazva a repolarizációs rezerv gyengülésén keresztül kamrai aritmiák vagy súlyosabb esetben hirtelen szívhalál kialakulásához vezethetnek.

5. Konklúzió

A PhD disszertáció legfontosabb megállapításai:

1. Az ibuprofén, fokozza az AP időtartamát nyúl és kutya kamrai izomrost preparátumokon közepes és magas terápiás koncentrációkban (100 és $200 \mu\text{M}$), illetve a repolarizációs rezerv gyengítésén keresztül fokozza a proaritmias rizikót. Az AP-t prolongáló hatás nem volt megfigyelhető humán szív preparátumokon $150 \mu\text{M}$ koncentrációban. Kutya Purkinje-rost preparátumokon, a szer rövidítette az AP repolarizációt alacsony és magas terápiás koncentrációkban egyaránt és csökkentette a depolarizáció maximális sebességét gyors szívfrekvenciákon. Antibiotikummal történő kombináció során, az ibuprofén után adott levofloxacin fokozta az ibuprofén által megemelkedett AP időtartamot, habár az önmagában adott levofloxacin ilyen hatásokkal nem rendelkezett. Ezen elektrofiziológiai hatások, az ibuprofén direkt ionáramokra kifejtett hatásaiból eredeztethetők. Kutya Purkinje-rost preparátumokon a szer csökkentette az acetilkolinnal előzetesen megnyújtott AP időtartamot, mely változás nagyobb mértékűnek bizonyult összehasonlítva a csak ibuprofénrel kiváltott hatásokkal.
2. A kannabidiol frekvenciafüggő módon nyújtotta az AP időtartamot tengerimalac, nyúl és kutya kamrai papilláris izomrost preparátumokon $1 \mu\text{M}$ és $5 \mu\text{M}$ koncentrációs tartományban, habár nyúl kamrai izomrostokon, magas koncentráció esetén ($10 \mu\text{M}$) a repolarizáció nyújtó hatás megszűnt. Kutya Purkinje-rost preparátumokon $0,3$, 1 és $3 \mu\text{M}$ koncentrációkban a CBD prolongálta az AP repolarizációt, illetve csökkentette a restitúciós görbe meredekségét. Az AP megnyúlás csökkentheti a repolarizációs rezerv funkciót hozzájárulva a szer

proaritmias kockázatának fokozódásához, illetve TdP kamrai aritmiák vagy hirtelen szívhalál kialakulásához.

6. Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönetemet fejezem ki témavezetőimnek, Dr. Koncz Istvánnak és Dr. Virág Lászlónak, a PhD tanulmányaim során nyújtott felbecsülhetetlen értékű tanácsaikért, támogatásukért, illetve azért, hogy mindvégig segítettek munkámat útmutatásaikkal.

Hálával tartozom továbbá Prof. Dr. Varró András korábbi intézetvezetőnek és Dr. Baczkó István jelenlegi intézetvezetőnek, akik lehetőséget kínáltak PhD tanulmányaim elvégzésére az SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet PhD hallgatójaként, illetve, hogy folyamatos támogatással, tanácsaikkal és javaslataikkal segítették kutatási tevékenységem előrehaladását. Mindvégig ösztönöztek a tudományos problémák megoldásához szükséges optimista hozzáállás elsajátítására.

Szintén köszönettel tartozom Dr. Magyar Tibornak, Molnár Imrénének, Dr. Árpádfy-Lovas Tamásnak és a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet összes munkatársának a kísérletek elvégzéséhez szükséges nélkülözhetetlen munkájukért és segítségükért.

Nem utolsósorba hálával tartozom családomnak és barátaimnak az elmúlt években nyújtott támogatásukért és törődésükért.