

HCN csatorna gátló szerek celluláris szívelektrofiziológiai hatásai

A Ph.D. Tézis összefoglalója

Dr. Koncz István

Témavezetők: Prof. Dr. Varró András és Dr. Virág László

**Szegedi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai
Intézet**

Szeged

2014

1. Bevezetés

A HCN csatornák gyógyszeres befolyásolása új fejezetet nyitott az angina pectoris, szívelégtelenség, a perifériás neuropátiás fájdalom, epilepszia kezelésének vonatkozásában. A sinus csomó modulátorok közé tartozó, a HCN csatornákon keresztül folyó I_f áramra nagy szelektivitást mutató, specifikus szívfrekvencia-csökkentő szer ivabradin javítja a bal kamra diszfunkciós betegek életkilátásait, csökkenti a mortalitást.

A szer kiemelt fontossága miatt humán donor szíveken és nagyállat modelleken részletes és egyben hiánypótló szívelektrofiziológiai vizsgálatokat végeztünk ezzel a már forgalomban levő gyógyszerrel, valamint újonnan fejlesztett, HCN csatorna gátló hatóanyagokkal, a zatebradin analóg EC18, és MEL57A jelzésű vegyületekkel.

Az ivabradin az egyetlen bradycardizáló szer, amely ezidáig alkalmazásra került a klinikai gyakorlatban. A pacemaker-áram (I_f) gátlása révén a spontán diasztolés depolarizáció meredekségét csökkenti. Alternatív készítmény a stabil angina pectoris kezelésében, sőt a legújabb szakmai ajánlások már a beta blokkolók mellé is ajánlják. Szelektív I_f áram gátló szerként vált híressé, de szelektivitása egyre inkább kérdésessé vált.

2. Módszerek

Konvencionális mikroelektród technika alkalmazásával kutya papilláris izom és Purkinje-rost, ill. humán donorszív preparátumokon vizsgáltuk az ivabradin és az EC18 és a MEL57A hatásait. Különböző frekvenciákon stimulálva elemeztük az akciós potenciál időtartamát a repolarizáció 10, 25, 50, 75, 90 %-ánál (APD_{10-90}) és a depolarizáció maximális sebességét (V_{max}), illetve mértük a spontán diasztolés depolarizáció amplitúdóját. Az ivabradin esetében az ionáram méréseket a patch clamp technika egészsejtes konfigurációjával végeztük (a módszer részletesen: Virág et al., 1998; Varró et al., 2000). A standard mikroelektródás mérések esetében egyfajta kísérletsorozaton belül, egy kísérletnél, több, mint 2 statisztikai csoport esetén is ugyanazon a preparátumokon történt a mérés, kumulatív gyógyszer adagolás alkalmazással. A statisztikai analízis a Student's t-test-tel történt.

3. Eredmények

Kutya Purkinje-rostokon és papillaris izmon 0.1 és 1 μM -os koncentrációban az ivabradin nem befolyásolta a repolarizációt, de 10 μM esetében, Purkinje-roston már az APD_{50} értékénél szignifikáns rövidülést, a humán és a kutya kamraizomzaton pedig szignifikáns APD_{90} megnyúlást tapasztaltunk. Az Ivabradin 1 és 10 μM -os koncentrációban frekvenciafüggő V_{max} gátlást okozott a preparátumokon.

Az ivabradin Purkinje rostokon a spontán diasztolés depolarizációt dóziszfüggően gátolta (0.1-1-10 μM). 10 μM koncentrációban megszüntette.

Az ivabradin BaCl_2 -dal történő előkezelést követően kutya papillaris izmon kifejezetten megnyújtotta a repolarizációt.

A MEL57A esetében Purkinje rostokon az akciós potenciál platójára kifejtett jelentős gátló hatást (Na^+ vagy L-típusú Ca^{2+} áram gátlására utal) találtunk (1-10 μM), a spontán diasztolés depolarizációt azonban a szer lényegében nem befolyásolta. Az EC18 esetében use-dependens V_{max} gátlást (papillaris izom, 10 μM), Purkinje rostokon kismértékű repolarizációt nyújtó hatást regisztráltunk. A spontán diasztolés depolarizációt dóziszfüggően gátolta (1-10 μM). Az ivabradin az I_{Kr} áramot gátolta nyúl kamrai myocitákon, dóziszfüggő módon, az IC_{50} értéke 3.5 μM volt. Az I_{to} és I_{K1} áramokat az ivabradin nem befolyásolta.

4. Megbeszélés

Elsőként írtuk le a szakirodalomban, hogy az ivabradin akár már terápiás koncentrációban is gátolhatja a szívben a Na^+ csatornákat, ez elsősorban a Purkinje rostokon a legkifejezettebb, ugyanitt részletesen vizsgáltuk a spontán diasztolás depolarizációra kifejtett hatását is a szernek. Mivel irodalmi adatok alapján az ivabradin 10 μM koncentrációban nem gátolja 100%-ban az I_f áramot, a Purkinje rostokon tapasztalt erős diasztolés depolarizáció gátlásra a szer ezen tulajdonsága nem ad kizárólagos magyarázatot.

Kiemeltük az ivabradin vonatkozásában az antiaritmiás (Na^+ csatorna gátló hatás) és bizonyos körülmények között a proaritmiás kockázat (I_{Kr} gátlás) lehetőségét. A szer I_{Kr} áram gátló tulajdonsággal is bír, gyengült repolarizációs rezerv esetében (ilyen kontextusban is mi vizsgáltuk először az ivabradint), melyet farmakológiailag modelleztünk, jelentős akciós

potenciál megnyúlást tapasztaltunk, ami gyengült repolarizációs rezervvel rendelkező betegek esetében kifejezetten veszélyes lehet.

A legújabb szerek kifejlesztésénél HCN-izoform-szelektivitásra törekedtek. Két, fejlesztés alatt álló, kémiai rokon vegyületek, az EC18 és a MEL57A. Az EC18 kódnevű hatóanyag szelektív a HCN4 izoformra. A HCN1-et csak jóval magasabb, a HCN2-t csak nagyon magas koncentrációban gátolja. Másik példa a MEL57A nevű hatóanyag, amely nagyfokú HCN1-szelektivitást mutat, kisebb mértékben befolyásolja a HCN2-t, mégkevésbé a HCN4-izoformot.

Mivel az ivabradin az utóbbi évtized egyik legnagyobb európai szívgyógyszerfejlesztése, és ha csak a nagy klinikai tanulmányokat vesszük alapul, látható, hogy betegek legalább tízezrei szedték és szedik a gyógyszert, mindenképpen tisztában kell lennie a klinikus kollégáknak a szer ezen újonnan leírt járulékos tulajdonságaival. A fejlesztés alatt álló szerek esetében is kiemelten fontos azok szívelektrofiziológiai hatásainak alapos ismerete a fázisvizsgálatok megkezdése előtt.

Mivel irodalmi adatok alapján az ivabradin 10 μM koncentrációban nem gátolja 100%-ban az I_f áramot, a Purkinje rostokon tapasztalt erős diasztolés depolarizáció gátlásra a szer ezen tulajdonsága nem ad kizárólagos magyarázatot. Purkinje-roston a feszültség-függő, lassan inaktíváló nátriumáram (I_{Na3}) is hozzájárul a diasztolés depolarizáció kialakításához, az ivabradin a kísérleteinkben feltehetőleg ezt az áramot is gátolta az I_f áram mellett.

5. Konklúzió

Az ivabradin alkalmazásakor tapasztalt V_{\max} csökkenés és a Purkinje-roston észlelt APD_{50} rövidítés hátterében Na^+ -csatorna gátlás állhat; a kamrai APD_{90} növekedése pedig K^+ -csatorna gátlásra enged következtetni. Eredményeink arra utalnak, hogy az ivabradin az I_f gátlása mellett, már a terápiáshoz közel álló koncentrációban is, más ioncsatornákra is hatást fejthet ki, amire a szer alkalmazása során figyelmet kell fordítani.

A MEL57A a HCN1 izoformot gátolja legerősebben, ennek megfelelően a pacemaker funkciót kevésbé befolyásolja. Valószínűleg csak submicromolaris dózisban javasolhatjuk a szert, mert mikromolaris dózisban az AP plató csökkentő hatás kifejezett. Egér dorsal root ganglion idegsejtjein, ahol a fő izoform a HCN1, fogják tesztelni a MEL57A-t, és a

gyulladásos folyamatokban, neuropátiás fájdalom témakörben kívánják vizsgálni a szer esetleges védő hatását.

Az EC18 szívelektrofiziológiai hatásai: V_{max} gátlás (papillaris izom, 10 μ M), I_{Kr} gátlás (Purkinje rostokon kismértékű repolarizációt nyújtó hatást láttunk, tehát I_{Kr} gátló hatása ennek a szernek is valószínűsíthető, ami az ivabradin estében is létezik, valamint a spontán diasztolés depolarizációra kifejtett hatásai szintén hasonlóak az ivabradinéhoz) és az, hogy a HCN4 izoformot gátolja leginkább, hasonlatossá teszik az ivabradinhoz. Szubmikromolaris dózisban alkalmazva, ha fejlesztésre kerül, akár versenytársa lehet az ivabradinnak, ha az I_{Kr} gátlása nem jelentős.

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények:

1. **Koncz I**, Szél T, Bitay M, Cerbai E, Jaeger K, Fülöp F, Jost N, Virág L, Orvos P, Tálosi L, Kristóf A, Baczkó I, Papp JG, Varró A. Electrophysiological effects of ivabradine in dog and human cardiac preparations: potential antiarrhythmic actions. *European Journal of Pharmacology* 2011 Oct 15;668(3):419-26. Epub 2011 Aug 2.
2. **Koncz I**, Szél T, Jaeger K, Baczkó I, Cerbai E, Romanelli MN, Gy Papp J, Varró A. Selective pharmacological inhibition of the pacemaker channel isoforms (HCN1-4) as new possible therapeutical targets. *Current Medicinal Chemistry*. 2011;18(24):3662-74.
3. Del Lungo M, Melchiorre M, Guandalini L, Sartiani L, Mugelli A, **Koncz I**, Szel T, Varro A, Romanelli MN, Cerbai E. Novel blockers of hyperpolarization-activated current with isoform selectivity in recombinant cells and native tissue. *British Journal of Pharmacology* 2012 May;166(2):602-16. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01782.x.