A szelektív NCX gátlás karakterizálása szívizomban: az inotrópiától az aritmiákig

Nagy Zsófia, *MSc*
(született: Kohajda Zsófia)

PhD értekezés tézisei

Témavezető:
Dr. Jost Norbert

Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
Szeged

2017

A DISSZERTÁCIÓ TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

Tudományos folyóiratok

I. Kohajda Z, Farkas-Morvay N, Jost N, Nagy N, Geramipour A, Horváth A, Varga RS, Hornyik T, Corici C, Acsai K, Horváth B, Prorok J, Ördög B, Déri Sz, Tóth D, Levijoki J, Pollesello P, Koskelainen T, Otsomaa L, Tóth A, Baczkó I, Leprán I, Nánási PP, Papp JGy, Varró A, Virág 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 11(11): e0166041. doi: 10.1371/journal.pone.0166041.eCollection (2016)
IF (2015): 3.057 (Q1)

II. Nagy N, Kormos A, Kohajda Z, Szebeni A, Szepesi J, Pollesello P, Levijoki J, Acsai K, Virag L, Nanasi PP, Papp JGy, Varro A, Toth A
Selective Na^{+}/Ca^{2+} exchanger inhibition prevents Ca^{2+} overload induced triggered arrhythmias.
BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY 171(24):pp.5665-5681(2014)
IF: 4.842 (Q1/D1)

III. Jost N, Nagy N, Corici C, Kohajda Zs, Horváth A, Acsai K, Biliczki P, Levijoki J, Pollesello P, Koskelainen T, Otsomaa L, Tóth A, Papp JGy, Varró A, Virág L.
ORM-10103, a novel specific inhibitor of the sodium/calcium exchanger, decreases early and delayed afterdepolarization in the canine heart.
BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY 170:(4) pp. 768-778. (2013)
IF: 5.067 (Q1/D1)

Tudományos absztraktok:

Jost N, Zs Kohajda, N Nagy, A Geramipour, RS Varga, T Hornyik, B Horváth, A Kormos, K Acsai, J Levijoki, P Pollesello, T Koskelainen, L Otsomaa, A Tóth, I Baczkó, PP Nánási, JGy Papp, L Virág, A Varró.
Role of Na+/Ca2+ exchanger (NCX) in cardiac automaticity and ventricular repolarization assessed by ORM-10962, a novel highly selective NCX inhibitor
HEART RHYTHM, 13(5S), S6, 2016
IF (2015): 4.391

Nagy N, Kohajda Zs, Acsai K, Kormos A, Tóth A, Oravecz K, Pollesello P, Levijoki J, Virág L, Jost N, Papp JGy, Varró A
Inhibition and activation of the cardiac Na+/Ca2+ exchanger – two aspects of transport modulation
CURRENT RESEARCH: CARDIOLOGY - EXPERIMENTAL CLINICAL 2:(3) p. 143. (2015)

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

I. Major P , Baczko I , Hiripi L , Odening KE , Juhasz V , Kohajda Z , Horvath A , Seprenyi G , Kovacs M , Virag L , Jost N , Prorok J , Ordog B , Doleschall Z , Nattel S , Varro A , Bosze Z.
A novel transgenic rabbit model with reduced repolarization reserve: long QT syndrome caused by a dominant-negative mutation of KCNE1 gene.
BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY 173:(12) pp. 2046-2061. (2016)
IF: 5.259 (Q1/D1)

II. Ordog B , Hategan L , Kovacs M , Seprenyi G , Kohajda Z , Nagy I , Hegedus Z , Kornyei L , Jost N , Katona M , Szekeres M , Forster T , Papp JG , Varro A , Sepp R
Identification and functional characterisation of a novel KCNJ2 mutation, Val302del, causing Andersen-Tawil syndrome
CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY 93:(7) pp. 569-575. (2015)
IF: 1.704 (Q2)

III. 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 PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY 91:(8) pp. 586-592. (2013)
IF: 1.546 (Q2)

IV. Jost N , Virág L , Comtois P , Ördög B , Szűts V , Seprényi Gy , Bitay M , Kohajda Zs , Koncz I , Nagy N , Szél T , Magyar J , Kovács M , Puskás LG , Lengyel Cs , Wettwer E , Ravens U , Nánási PP , Papp JGy , Varró A , Nattel S
Ionic mechanisms limiting cardiac repolarization-reserve in humans compared to dogs.
JOURNAL OF PHYSIOLOGY-LONDON 591:(17) pp. 4189-4206. (2013)
IF: 4.380 (Q1/D1)

V. Kristóf A , Husti Z , Koncz I , Kohajda Zs , 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) p. e53255. (2012)
IF: 3.730 (Q1)

VI. Jost N , Kohajda Z , Kristof A , Kovacs PP , Husti Z , Juhasz V , Kiss L , Varro A , Virag L , Baczko I
Atrial remodeling and novel pharmacological strategies for antiarrhythmic therapy in atrial fibrillation.
CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY 18:(24) pp. 3675-3694. (2011)
IF: 4.859 (Q1)

VII. Virág L , Jost N , Papp R , Koncz I , Kristóf A , Kohajda Zs , Harmati G , Carbonell-Pascuall B , Ferrero JM , Papp JGy , Nánási PP , Varró A
Analysis of the contribution of I(to) to repolarization in canine ventricular myocardium.
BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY 164:(1) pp. 93-105. (2011)
IF: 4.409 (Q1/D1)

BEVEZETÉS

1.1. A szív akciós potenciálját meghatározó főbb ioncsatornák

A szív akciós potenciáljának (AP) öt szakaszát különböztethetjük meg. Az ún. depolarizációs vagy *0. fázisban* a gyors Na^+ csatornák (I_{Na}) depolarizálják a sejtmembránt, amely a gyors ingerületvezetés alapfeltétele. Az *1. fázis* a gyors repolarizáció, melyben a tranziens kifelé haladó kálium áram (I_{to}) játszik fő szerepet. Az I_{to} áramot kialakító ioncsatorna fehérjék a szív különböző rétegeiben eltérő mennyiségben fejeződnek ki, így az AP alakja ezekben a rétegekben különbözik egymástól. A kifelé és a befelé haladó ionok egymást ellensúlyozva hozzák létre a szívizomra jellemző *2. fázist* vagy plató fázist. Itt fő szerepet tölt be a befelé haladó kalcium áram (I_{CaL}), mely elsődleges iniciátora a kontrakciót is létrehozó kalcium ciklusnak. Az I_{CaL} lassú inaktivációja után a K^+ áramok létrehozzák a repolarizációs, azaz *3. fázist*. A repolarizációban a kifelé haladó kálium áram gyors (I_{Kr}) és lassú (I_{Ks}) komponense, valamint a befelé egyenirányító kálium áram (I_{K1}) vesznek részt. A *4. fázisban* a kamrai szívizomban az I_{K1} és feltehetőleg a Na^+/K^+ pumpa működése által helyreáll a nyugalmi membránpotenciál. Azokban a szövetekben, melyben az I_{K1} expressziós szintje alacsony (pitvarban, Purkinje rostokban) nincs stabil nyugalmi membránpotenciál és ún. lassú diasztolés depolarizáció figyelhető meg, mely fontos szerepet tölt be a szív pacemaker funkciójában.

1.1.1. A repolarizációs rezerv fogalma

A repolarizációs rezerv fogalmát Roden és munkatársai (1998) vezették be klinikai és kísérleti megfigyeléseik alapján. Azt vették észre, hogy egy típusú kálium csatorna gátlása nem vezet jelentős APD megnyúláshoz, melynek hátterében az áll, hogy az emlős szívben a repolarizáció túlbiztosított. Egy gátolt vagy működésképtelen ioncsatorna szerepét a többi kálium csatorna bizonyos mértékben kompenzálni képes, így túlzott mértékű APD megnyúlás nem jön létre. Az emberi, kutya és nyúl kamrai szívizomsejtek e repolarizációs kapacitása teszi lehetővé, hogy csökkenjen a szív különböző rétegeiben a transzmurális APD diszperzió, így az aritmiák valószínűsége. Ha a repolarizációs rezerv sérült pl. farmakológiai gátlószerek által vagy betegség következményeképpen fellépő ioncsatorna remodelling miatt (szívelégtelenség, diabetes mellitus, hipertireózis, genetikai rendellenesség: LQT, Brugada stb.), megnőtt szimpatikus aktivitás során vagy hipokalémiában már akár egy minimális további kálium ioncsatorna gátlás is extrém és potenciálisan proaritmiás APD megnyújtó hatású lehet. Ezért a több K^+ ioncsatornára ható gátlószerek, melyek jelentős APD megnyújtást okozva a repolarizációs rezervet befolyásolják, nagy proaritmiás rizikót hordoznak magukban.

1.1.2. Transzmurális heterogenitás a kamrai szívizomban

Elektrofiziológiai és farmakológiai tulajdonságaik alapján az emlős kamrai szívizom rétegeiben vannak különbségek. Funkcionálisan négy különböző sejttípust különböztethetünk meg: epikardiális, midmiokardiális, endokardiális és Purkinje sejtek. Az epi- és endokardium AP rövidebb, mint a midmiokardiális, vagy Purkinje sejteké. Az epikardiumban az I_{to} és I_{Ks} expressziós szintje magasabb, mint más rétegekben. A midmiokardiális sejtek (M sejtek) és a Purkinje sejtek

farmakológiai érzékenysége nagyobb. Az M sejtekben az I_{Ks} expressziója kisebb, míg I_{NaL} nagyobb az endo- és epikardiumhoz viszonyítva és az APD kifejezett frekvenciafüggést mutat, valamint ez a réteg káliumcsatorna gátlószerekkel szemen sokkal nagyobb érzékenységet mutat. Az M sejteket elektromosan jól körülvevő epi- és endokordiális sejtek stabilizálják és kompenzálják a lehetséges extrém APD megnyúlást. Az I_{CaL}, I_{Kr} és I_{K1} áramok kifejeződése hasonlóak a szív rétegeiben, viszont a nátrium/kalcium kicserélő (NCX) legkifejezettebb az M sejtekben.

1.2. A nátrium/kalcium kicserélő szerepe a szívben

1.2.1. Az NCX fiziológiás szerepe a kamrai miokardiumban

Az NCX fontos szerepet játszik a szívizom Ca^{2+} homeosztázisban. Fő feladata az egy szívciklus során felszabaduló Ca^{2+} eltávolítása a sejtből. Az NCX *forward* irányú működése során 1 Ca^{2+} eltávolításával 3 Na^{+} iont hoz a sejtbe, ezzel depolarizálja a membránt és *inward* áramot hoz létre. Az NCX *reverz* módban is működhet a mindenkori külső és belső Na^{+} és Ca^{2+} koncentrációk, illetve a membránpotenciál függvényében. Ebben az esetben 3 Na^{+} eltávolításával 1 Ca^{2+}-t visz a sejtekbe, így repolarizáló *outward* áram jön létre. Normál körülmények között az NCX elsősorban *forward* módban működik és az intracelluláris Ca^{2+}eltávolítását végzi a sejtből, ez által védi a sejteket a Ca^{2+} túltelítődéstől, amely aritmiákhoz és sejthalálhoz vezethet.

Az elmúlt évtizedekben számos NCX gátló vegyület került fejlesztésre. A KB-R7943 egy hatékony NCX gátlóként került bevezetésre, de hatása nem bizonyult szelektívnek, mert számos más ioncsatornát is gátolt. A SEA0400 habár széles körben alkalmazott az NCX kutatásában, az egyidejű I_{Ca} gátlás miatt a kísérleti eredmények kérdésesek. Az ORM-10103 és az ORM-10962, újonnan szintetizált NCX gátló vegyületek, amelyeknek nincs I_{ca} gátló hatása. Az NCX gátlás klinikai jelentősége olyan korképekben jelenthetne megoldást, mint a szívelégtelenség, ahol a szív pumpa funkciója a csökkent Ca^{2+} tartalom miatt gyengült, így az NCX gátlás pozitív inotróp hatású lehet, növelve a sejtek Ca^{2+} koncentrációját. Azonban az NCX gátlás pozitív inotróp hatásáról szóló eddigi kutatások eredményei ellentmondásosak. Azok a tanulmányok, melyeket Langendoff perfundált patkány szíven végeztek SEA-0400 alkalmazásával pozitív inotróp hatásról számoltak be, ám ugyanezt egyetlen szelektív NCX gátló (pl. SEA-0400 és ORM-10103) alkalmazásával nem sikerült bizonyítani sem nyúl, sem kutya szíven. Az eredmények diverzitása magyarázható a nem szelektív gátlószerek alkalmazásával, vagy a faji különbözőségekkel.

1.2.2. Az NCX lehetséges szerepe nodális szövetben

A szinusz csomó, mint a szív elsődleges ritmusgeneráló központja, jellegzetes spontán ún. lassú válasz típusú AP-t hoz létre, mely biztosítja a ritmikus szívműködést. Az AP felszálló szára a diasztolés depolarizáció (DD), mely lassan depolarizálja a membránt a T-típusú kalcium csatorna küszöbpotenciáljáig. Bármely behatás, mely módosítani képes a DD meredekségét, befolyásolja a szívfrekvenciát. Kutatások bizonyították, hogy az atrioventrikuláris csomóban illetve a Purkinje

sejtekben is az automácia mechanizmusa hasonlóan játszódik le, mint a szinusz csomóban. Az ún. „membrán óra” teóriája szerint a spontán ritmusgenerálásban elsősorban a *pacemaker* áram (I_f) áram által létrejövő depolarizáció a fontos. Egy másik teória az ún. „Ca^{2+} óra” pedig azt írja le, hogy az SR-ből felszabaduló periodikus lokális Ca^{2+} felszabadulásoknak is nagy jelentősége van a ritmusgenerálásban. A DD alatt ezek az 1-5Hz-es Ca^{2+} felszabadulások aktiválhatják az NCX forward módját, mely által depolarizáló inward Na^+ áram jön létre, ami gyorsítja a küszöbpotenciál elérését. Valójában a két mechanizmus, a membrán óra és a Ca^{2+} óra együttesen alkotnak egy összefüggő kapcsolt mechanizmust, amely felelős a normál automácia kialakulásáért. Az NCX szerepének tisztázása ezekben a folyamatokban intenzív kutatás tárgya, de szelektív NCX gátló hiányában direkt kísérletes bizonyítékok eddig nem voltak az NCX pacemaker funkcióban betöltött szerepével kapcsolatban.

1.2.3. Az NCX patofiziológiás szerepe a Na^+ indukálta Ca^{2+} túltelítődésben

Az NCX működését az intra- és extracelluláris Na^+ és Ca^{2+} koncentráció jelentősen befolyásolja, így mindazon behatások, amelyek megbontják a normál Na^+/Ca^{2+} egyensúlyt az NCX működésében is változást hoznak létre. Az NCX megváltozott egyensúlyi működése membránpotenciál ingadozást és kóros, késői utódepolarizációk (DAD) kialakulásához vezethet. Azokban a kórfolyamatokban, melyekben nő az intracelluláris Na^+ szint a csökkent Na^+/K^+ pumpa funkció miatt (hipoxia vagy digitalis intoxikáció következtében) vagy a kórosan megnőtt I_{NaL} ionáram következtében (LQT3) aktiválják az NCX reverz módját, ami jelentős Ca^{2+} akkumulációhoz vezet a sejtben. Az ilyen esetekben a szelektív NCX gátlás a reverz mód szupressziója révén antiaritmiás hatású lehet, azonban az eddigi kísérleti eredmények ellentmondásosak az irodalomban. Az NCX gátlás antiaritmiás hatásáról számoltak be ischemia/reperfúziós behatás után létrejövő aritmiákban *in vivo*, Langendorff perfundált szíven és farmakológiai szerekkel kiváltott ischemia/reperfúziós modellekben. SEA0400-al végzett kísérletekben leírták, hogy az NCX gátlás csökkenti a korai utódepolarizációk (EAD) kialakulását is, viszont az akonitin indukálta aritmiákat nem befolyásolta, sőt Langendorff perfundált patkány szíven az aritmiák előfordulását és hosszát növelte. Az NCX gátlással kapcsolatos eddigi eredményeink a mi intézetünkben is ellentmondásosak voltak. A SEA0400 dofetilide alkalmazása után befolyásolta a QTc intervallumot és nem akadályozta meg a *Torsades de Pointes* (TdPs) típusú aritmiák kialakulását Langendorff perfundált nyúl szíven, viszont egy másik kísérletben hatékonyan csökkentette a kialakuló EAD-ok amplitúdóját az APD befolyása nélkül. Ezzel ellentétben Milberg és mtsai jelentős APD csökkentő hatásról számoltak be SEA0400 alkalmazása után, sőt kísérleteikben a sotalol vagy veratridine által indukált TdP aritmiák kialakulása is csökkent. Hasonló eredményről számolt be Jost és mtsai, egy új, szelektívebb NCX gátló szer, az ORM-10103 alkalmazása által, amely a farmakológiailag indukált DAD-ok és EAD-ok kialakulását egyaránt csökkentette.

1.2. **NCX gátlószerek összefoglalása**

A benzyloxyphenyl származékokat, mint pl. a KB-R7943, SEA0400 és SN-6, számos NCX-el kapcsolatos kutatásban alkalmazták. Ezek a gátlószerek az NCX extracelluláris részén keresztül fejtik ki a hatásukat. A KB-R7943 az NCX *reverz* módját hatékonyabban gátolja (EC_{50}= 0.3 µM) mint a *forward* módot (EC_{50}=17 µM). A SEA0400 hatékonyabb NCX gátló (EC_{50}=111 nM *reverz* mód *vs* 108 nM *forward* mód), viszont egyik vegyület sem szelektív, az NCX gátlással egyidejűleg befolyásolják: I_{Na}, I_{CaL}, I_{K1} és a késői egyenirányító K^+ áramokat is. A KB-R7943 vegyületből továbbfejlesztett SN6-al a probléma szintén az, hogy az NCX reverz módját hatékonyabban gátolja (EC_{50}= 1.9 µM *vs* 2.3 µM) és más ionáramokat is gátolva (I_{Na}, I_{CaL}, I_{Kr}, I_{Ks}, I_{K1}) rövidíti az AP-t. Az NCX gátló fehérje a XIP már az NCX mindkét módját hatékonyan gátolja, ám az alkalmazása kísérletekben problémás mivel nem penetrál a sejtekbe. Az új, ígéretes NCX gátlók kerültek felfedezésre: az ORM-10103 and ORM-10962, melyek az NCX mindkét módját hatékonyan gátolják. Az ORM-10103 *in vitro* körülmények között szupresszálta az EAD és DAD megjelenését kutya szívizom preparátumokon. Az ORM-10103 az NCX maximális gátló koncentrációban (10µM) 25.4%-ban gátolja az I_{Kr} ionáramot, viszont más ioncsatornákat nem befolyásol. Az újabba ORM-10962 már egy kisebb EC_{50}-el rendelkező és szelektivitása, valamint antiaritmiás hatása miatt ígéretes új NCX gátló lehet.

1.4. Célkitűzés

Mivel az eddigi tudásunk az NCX szerepéről a szív repolarizációjában és az automáciában szelektív NCX gátló hiányában nem teljes, így célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk:

1) Az újonnan szintetizált ORM-10103 és ORM-10962 gátlószerek hatását az NCX-re
2) Az ORM-10962 szelektivitását a főbb ioncsatornákra, az összehasonlítva az ORM-10103-al
3) A szelektív NCX gátlás hatását a kamrai akciós potenciálon és kalcium tranziensen
4) NCX lehetséges szerepét az automáciában
5) Az NCX gátlás hatását az *in vitro* triggerelt aritmiákon

3. EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

3.1. Az ORM-10103 és az ORM-10962 NCX gátló hatása

Az ORM-10103 10 µM-os koncentrációban az NCX reverz és forward módját is szignifikánsan gátolta, a mért EC_{50} értékek: 780 nM inward NCX, 960 nM outward NCX áramokra.

Az ORM-10962 szintén hatékonyan, koncentrációfüggő módon gátolta az NCX áram mindkét módját, az EC_{50} értékek: 55 nM inward NCX, 67 nM outward NCX áramokra.

3.2. Az ORM-10962 szelektivitásának vizsgálata

3.2.1. Az ORM-10962 hatása az L-típusú kalcium áramra

Az ORM-10962 lehetséges hatását az I_{CaL} áramra izolált kutya kamrai sejteken vizsgáltuk patch-clamp módszerrel. Az ORM-10962 még magasabb koncentrációban sem (1 µM) befolyásolta az I_{CaL} ionáramot. Ezt az eredményt tengerimalac papilláris izmon végzett „lassú válasz” típusú AP kísérletben is megerősítettük, ahol az ORM-10962 1 µM-ban nem befolyásolta az AP amplitúdóját és sem a dV/dtmax értékét. Ezeken a preparátumokon pozitív kontrollként egy jól ismert I_{CaL} gátlószert, nisoldipine-t alkalmaztunk a kísérletek végén 100 nM-ban, mely szignifikánsan csökkentette az AP amplitúdóját és dV/dtmax értékét.

3.3.2. Az ORM-10962 hatása a nátrium áram gyors és lassú komponensére, valamint a Na^+/K^+ pumpára

A nátrium áram lassú komponensét (I_{NaL}) -120 mV-os nyugalmi membránpotenciáról -20 mV-ra történő depolarizáló pulzussal aktiváltuk. 1 µM ORM-10962 nem csökkentette az áram amplitúdóját, míg a pozitív kontrollként adott 20 µM TTX teljesen gátolta.

A gyors nátrium áramot ($I_{Na,peak}$) Nav1.5 cDNS-t tartalmazó plazmiddal transzfektált CHO sejteken mértük, -90 mV nyugalmi membránpotenciálról történő -20 mV depolarizáló pulzussal. 1 µM ORM-10962 hatására az $I_{Na,peak}$ szignifikánsan nem változott, viszont pozitív kontrollként a 20 µM TTX jelentősen csökkentette az áramot .

A Na^+/K^+ pumpa áramot (I_p) mint egy „steady-state” típusú áram határoztuk meg -30 mV-os feszültségen. Kontroll körülmények között mért I_p nagysága 5-7 perces 1 µM ORM-10962 inkubáció után kis mértékben csökkent, ezért a kísérletet oldószeres (DMSO) időkontrollal is megismételtük, ahol az áram szintén kis mértékben csökkent. Ezek alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy az ORM-10962 nem befolyásolja az I_p áramot. Pozitív kontroll adott 10 µM strophantint, viszont teljesen gátolta az I_p áramot.

3.2.3. Az ORM-10962 hatása a kálium ionáramokra

Az ORM-10962 lehetséges hatását az I_{K1}, I_{to}, I_{Kr} és I_{Ks} áramokra is ellenőriztük. Az I_{K1} áramot 300 ms-os „steady-state” áramként regisztráltuk -80 mV-tól 0 mV-ig történő négyszög impulzusokkal. Az I_{to} áramot 1000 ms hosszú teszt potenciálokkal aktiváltuk -80 mV nyugalmi potenciálról 50 mV-ig. Az I_{Kr} és I_{Ks} „farok áramokat” -40 mV-on határoztuk meg, az I_{Ks} esetében 5000 ms, az I_{Kr} estében pedig

1000 ms hosszú különböző depolarizáló tesztpotenciálok után (50 mV-ig). Eredményeinkben azt tapasztaltuk, hogy az 1 µM ORM-10962 szignifikánsan nem befolyásolja ezen ionáramokat.

3.2.4. Az ORM-10962 lehetséges hatása a pacemaker áramra

Az ORM-10962 lehetséges hatását a szinusz csomó I_f ionáramán is teszteltük nyúl jobb pitvarából izolált szinusz csomó sejteken. Az I_f ionáramot -30 mv-os nyugalmi potenciálról hiperpolarizáló feszültség impulzusokkal aktiváltuk (-120 mV). Az I_f áramot ivabradine szenzitív ionáramként határoztuk meg. A negatív hiperpolarizáció által aktivált 10 µM ivabradine szenzitív áram nagysága 1 µM ORM-10962 alkalmazása után nem változott szignifikánsan.

3.3. Az ORM-10103 és az ORM-10962 szelektivitásának összehasonlítása a főbb repolarizáló transzmembrán kálium ionáramokon

Az ORM-10103 (10 µM) és az ORM-10962 (1µM) hatásait az I_{K1}, I_{to}, I_{Kr}, I_{Ks} főbb repolarizáló kálium áramokra hasonlítottuk össze. Egyik ORM vegyület sem gátolta az I_{K1}, I_{to} , I_{Ks} ionáramokat, viszont az ORM-10103 kis mértékben, de szignifikánsan gátolta az I_{Kr} ionáramot, míg az ORM-10962 ezt sem befolyásolta.

3.4. A szelektív NCX gátlás hatása a Ca^{2+} tranziensen és az akciós potenciálon normál körülmények között

A CaT és a sejtrövidülés kis mértékben, de szignifikánsan nőtt 1µM ORM-10962 hatására, miközben a diasztolés Ca^{2+} szint nem változott a kísérletek alatt. Normál körülmények között az AP karakterisztikát az 1 µM ORM-10962 nem befolyásolta.

3.5. A szelektív NCX gátlás hatása endokardiális, epikardiális és Purkinje rost preparátumokon

A szubendokardiális szövet preparátumokon egy kismértékű megnyúlást regisztráltuk az APD paramétereiben 1µM ORM-10962 alkalmazása után, míg a szubepikardiális preparátumokon APD hossz étékek szignifikánsan növekedtek. A Purkinje rost preparátumokon nem konstans és különböző irányú változásokat regisztráltunk az egyes kísérletekben. Azon kívül, hogy a plató potenciál csökkenését figyeltük meg, a repolarizációs paraméterekben nem történt szignifikáns változás.

3.6. Az NCX gátlás hatása a spontán automáciára

3.6.1. Az NCX gátlás hatása a spontán automáciára Purkinje roston és pitvari szöveten

Kutya Purkinje rostokon 1 µM ORM-10962 növelte a spontán AP ciklushosszát. Nyúl Purkinje rostokon is szignifikáns ciklushossz nyújtó hatást figyeltünk meg a spontán AP-okon már 0.5 µM és 1 µM ORM-10962 alkalmazását követően is. Nyúl jobb pitvari szöveten 1 µM ORM-10962 kismértékű, de szignifikáns frekvencianyújtó hatást eredményezett. Azon időkontroll kísérletekben, ahol csak az oldószert alkalmaztuk (DMSO) nem tapasztaltunk változást.

3.6.2. Az NCX gátlás hatása a spontán automáciára ivabradine kezelés után

Ezekben a kísérletekben először 3 µM ivabradine-t alkalmaztunk nyúl jobb pitvari szöveteken a spontán automácia frekvenciájának előzetes csökkentésére. Az ezt követő 1 µM ORM-10962 alkalmazása tovább nyújtotta a ciklushosszt. Az ORM-indukálta ciklushossz növekedés az ivabradine alkalmazása után szignifikánsan nagyobb volt, mint az ORM önálló alkalmazása során. Az időkontroll kísérletekben az ivabradine hatása megegyezett a kontroll kísérletek során tapasztalt változással, azonban az ezt követően alkalmazott oldószer (DMSO) nem befolyásolta érdemben a ciklushosszt.

3.7. Az NCX gátlás antiaritmiás hatása a késői utódepolarizációra *in vitro* körülmények között

Kutya szív Purkinje rostokon a DAD-kat 150 nM digoxinnal indukáltuk. 40 darab 400 ms-os stimulus után következő nyugalmi időperiódusban számos DAD alakult ki. 1 µM ORM-10962 szignifikánsan csökkentette az DAD-ok amplitúdóját. Egyes kísérletekben a digoxin extra AP-kat is indukált (*in vivo* extraszisztolékhoz hasonló jelenség), melyeket 1 µM ORM-10962 teljesen megszüntetetett.

3.8. Az NCX gátlás hatása a Ca^{2+} tranziensre és az akciós potenciálra, az NCX reverz illetve forward módjának aktiválását követően

Az első kísérleti elrendezésben az extracelluláris Na^+ koncentrációt 70 mM-ra csökkentettük és az oldatot 70 mM kolin-kloriddal egészítettük ki. Ezzel a módszerrel csökkentettük a Na^+ elektrokémiai hajóerejét és így az NCX *reverz* módját stimuláltuk. 1µM ORM-10962 hatására az AP kis mértékben, de szignifikánsan megnyúlt. A CaT és a sejtrövidülés nőtt az alacsony Na^+ Tyrode oldatban, majd az 1 µM ORM-10962 alkalmazása után szignifikánsan csökkent. Az ORM-10962 alkalmazást követően a diasztolés Ca^{2+} szint szignifikánsan csökkent az alacsony Na^+ tartamú oldatban mérthez képest.

A második kísérleti elrendezésben az NCX *forward* módját stimuláltuk 1 µM forskolin adásával. A forskolin az adenilát-cikláz és protein kináz rendszeren keresztül az I_{CaL} csatorna foszforilációjával növeli az intracelluláris Ca^{2+} szintet. Ez esetekben a stimulált *forward* NCX gátlása az AP-on 1µM ORM-10962-vel a plató potenciál csökkenéséhez vezetett, miközben a repolarizációs szakasz nem változott. 600 nM forskolin a kutya bal kamrai sejteken növelte a Ca^{2+} tranzienst és a sejtrövidülést, majd az ezt követő 1 µM ORM-10962 adása további növekedést okozott. A diasztolés Ca^{2+} szint nem változott a kísérletek alatt.

4. DISZKUSSZIÓ

4.1. ORM-10962 nagyobb hatékonyságú és specificitású mint az ORM-10103

Az eddigiekben használt NCX gátlók (KB-R7943, SEA0400) sikeresen tágították tudásunkat az NCX elektromechanikai csatolás és aritmogenezisben betöltött szerepéről. Ezen eredmények azonban kifogásolhatóak, mert az alkalmazott szerek nem kellően szelektívek az NCX áramra és más ionáramokat is gátolnak (I_{CaL} és I_K csatornák). A laboratóriumunkban folytatott előzetes kísérleteinkben bizonyítottuk, hogy az ORM-10103 már egy olyan NCX gátló vegyület, amely nem befolyásolja a I_{CaL} áramot és hatékony a triggerelt aritmiák kivédésében (csökkentette az EAD-ok amplitúdóját és a DAD kialakulását). Az ORM-10103 azonban, az NCX maximális gátlásának a koncentrációjában (10 µM) 25.4%-ban gátolja az I_{Kr} ionáramot. Így ennek a vegyületnek az alkalmazhatósága limitált az NCX betöltött szerepének vizsgálatára, mert befolyásolja a kamrai repolarizációt.

A továbbfejlesztett ORM-10962 amellett, hogy magasabb koncentrációban (1µM) sem befolyásolja a I_{CaL} áramot, nem hat a nátriumáram gyors és lassú komponensére, sem a Na^+/K^+ pumpára, sem a főbb repolarizáló kálium ionáramokra (I_{K1}, I_{to}, I_{Kr} és I_{Ks}) a maximális NCX gátló (~80%) koncentráció tartományban. Teljes körű szelektivitása mellett további előnye, hogy kis EC_{50} értékkel rendelkezik az NCX mindkét módjára (55/67nM inward/outward NCX áramra). A további kísérleteinkben az NCX gátlás tanulmányozására, így ezt a vegyületet alkalmaztuk.

4.2. A szelektív NCX gátlás mérsékelt pozitív inotróp hatású, miközben nem befolyásolja az akciós potenciál alakját normál körülmények között

Az NCX normál körülmények között az akciós potenciál alatt túlnyomórészt *forward* módban működik, így gátlása esetén a várt eredmény az intracelluláris Ca^{2+} szint emelkedése és az AP rövidülése lenne. Ennek ellenére az eddigi kísérletes eredmények a SEA0400 illetve az ORM-10103 alkalmazásával, nem számoltak be ilyen pozitív inotróp hatásról. Ezzel szemben, az ORM-10962 alkalmazásával a hipotézisnek megfelelően pozitív inotróp hatás alakult ki, ugyanis növelte a CaT-t és a sejtrövidülést kutya kamrai miocitákon. Ez a szelektív NCX gátlás okozta CaT növekedés viszont várthoz képest kisebb mértékű volt. Ennek hátterében az NCX egyidejű *reverz* módjának a gátlása is állhat, amely csökkenti az intracelluláris Ca^{2+} influxot a sejtben. A másik lehetőség, hogy a PMCA működése kompenzálja az NCX csökkent funkcióját és több Ca^{2+}-ot visz ki sejtből. Normál körülmények közt intakt Ca^{2+} ciklus mellett az NCX olyan kis amplitúdójú áram melynek, a gátlásának a hatása teljesen kompenzálódhat a fentebb említett mechanizmusok által. Az ORM-10962 hatását az AP-ra a szív különböző transzmurális rétegeiben is vizsgáltuk és szövet specifikus eltéréseket tapasztaltunk. A szelektív NCX gátlás kis mértékben növelte az APD_{90} értéket az epikardiumban, miközben az endokardumban és Purkinje roston nem okozott szignifikáns változást. Az egészséges szívizomban a sejtek szorosan kapcsolt elektromos hálózatba rendezettek és az

elektrotónusos kölcsönhatások minimalizálják a változásokat szöveti szinten, míg ezek sejtszinten érvényre juthatnak, ami magyarázatot ad az epikardiális szövetben tapasztalt kis változásokra. Korábbi eredményeink alapján normál körülmények között csak kismértékű NCX áram aktiválódik egy AP alatt, és ennek a kis áramnak gátlása olyan kis változást okoz, amely teljes mértékben kompenzálódhat a repolarizációs rezerv által. Az NCX áram nagysága függ az aktuális membránpotenciáltól, valamint Na^+ és Ca^{2+} szinttől. Az AP és a CaT kinetikája változó lehet a különböző szövet típusokban (endokardium, epikardium, Purkinje rost) és még a szöveteket alkotó különböző miocitákban is. Nem zárhatjuk ki annak lehetőségét sem, hogy az NCX áram két módjának az aktivitás megoszlása változik az egyes kamrai szövetrétegekben: egyre inkább inwarddá válik az epikardiumtól az endokardium felé haladva.

4.3. A szelektív NCX gátlás csökkenti a spontán automáciát a szinusz csomóban és a Purkinje rostokban normál körülmények között

Az ORM-10962 szignifikáns negatív kronotrop hatást fejtett ki a szinusz csomón és a Purkinje rostokon. Előző kutatások két kompetitív mechanizmust írtak le, melyek szerepet játszanak a szívritmus iniciációjában: az egyik az ún. „membán óra” (M-clock), amely a frekvenciaszabályzásban a pacemaker I_f áram fő szerepét hangsúlyozza, a másik pedig az ún. „Ca^{2+} óra” (Ca^{2+}-clock). A Ca^{2+} óra elmélete szerint a lokális Ca^{2+} felszabadulás az SR-ből egy lokális depolarizációt hoz létre, amely stimulálja az NCX *forward* módját. A *forward* NCX a Ca^{2+} eltávolításával depolarizáló Na^+ áramot hoz létre, amely az I_f pacemaker ionárammal együtt hozzájárul a fokozatos lassú diasztolés depolarizációhoz. Az eredményeink ezt az elméletet igazolták, mivel az NCX gátlás csökkentette a spontán frekvenciát mind kutya és nyúl Purkinje rostokon, valamint nyúl jobb pitvari preparátumokon, anélkül, hogy az alkalmazott NCX gátló, az ORM-10962 befolyásolná az I_f áramot. Mindazok ellenére, hogy az ORM-10962 kicsi, de ugyanakkor szignifikáns hatást mutatott, úgy tűnik az NCX-nek a diasztolés depolarizációban csak kis, moduláló szerepe van. A legújabb elméletek a két mechanizmus, a membrán óra és a Ca^{2+} óra egy kapcsolt együttműködését sejtik az automácia iniciációjában, amelyben egyik fél sem domináns, hanem együttesen szabályozzák a spontán AP frekvenciát és a ritmusgenerálást a pacemaker sejtekben. Ezt a kapcsolt elméletet igazolja, hogy az ivabradine (szelektív I_f gátló) alkalmazása egy másik tanulmányban, indirekt szupresszálta a Ca^{2+} ciklust, csökkentette a SR Ca^{2+} tartalmat anélkül, hogy befolyásolna más ioncsatornát, amelyek a Ca^{2+} ciklusban játszanak szerepet (I_{Ca}, RyR). Ezek az eredmények rámutatnak arra, hogy az ivabradine bradikardizáló hatása nem csak egyedül az I_f áram gátlásának, hanem a két kapcsolt óra megbomlott együttműködésének is következménye. Ennek hátterében az SR Ca^{2+} tartalmának a csökkenése állhat, mert a csökkentett a lokális Ca^{2+} felszabadulás csökkenti az NCX aktivitását a membrán órában. Az eredményeink is ezt támasztják alá, hiszen az ivabradine-val előkezelt spontán AP frekvencia az NCX gátlást követően tovább csökkent.

4.4. Az NCX gátlás hatásos a Na^+ indukálta Ca^{2+} beáramlás okozta késői utódepolarizációk kivédésére

Előző eredmények igazolták, hogy az NCX gátlás SEA0400-al vagy ORM-10103-al hatékonyak a Na^+ indukálta Ca^{2+} beáramlás okozta DAD-ok megszüntetésére. A teljesen szelektív NCX gátló ORM-10962 alkalmazásával mi is hasonló eredményt kaptunk, az ORM-10962 teljesen megszüntette a digoxin indukálta DAD és spontán automácia kialakulását kutya Purkinje rost preparátumokon. A digoxin gátolva a Na^+/K^+ pumpa működését rövidíti az AP-t és emeli az intracelluláris Na^+ szintet, ami aktiválja az NCX *reverz* módját. A *reverz* NCX a Na^+ eltávolításával jelentős Ca^{2+} akkumulációt okoz a sejtben, ami az NCX *forward* módjának stimulálásán keresztül újra emelkedett Na^+ influxot eredményez. Ezért elméletileg a két NCX mód együttes gátlása antiaritmiás hatású lehet, a *reverz* NCX gátlása csökkenti az intracelluláris Ca^{2+}szintet, a *forward* mód gátlása pedig direkt csökkenti a DAD amplitúdóját és kialakulását. Ennek a kérdésnek a megválaszolására terveztük azt a kísérletet melyben az NCX két módját külön aktiváltuk.

Alacsony Na^+ tartalmú külső Tyrode oldatban, ahol az NCX *reverz* módja aktív az NCX gátlás negatív inotróp hatásának bizonyult, valószínű az által, hogy az ORM-10962 csökkentette a $[Ca^{2+}]_i$ szintet. Ugyanakkor mivel az NCX *reverz* módja outward áramot hoz létre, az NCX gátlása ebben az esetben az AP megnyúlásával járt együtt. Ez az eredmény bizonyítja, hogy a Na^+ indukálta Ca^{2+} túltelítődés során az NCX főleg *reverz* módban működik, így gátlása intracelluláris Ca^{2+} csökkenést és negatív inotróp hatást fejthet ki. Régebbi kísérleteinkben, az ORM-10103-al hasonló eredményeket kaptunk.

A másik kísérleti elrendezésben az NCX *forward* módját stimuláltuk forskolin alkalmazásával, mely az adenilát-cikláz aktiválásával, megnövekedett Ca^{2+} szintet hoz létre. Ebben a helyzetben a szelektív NCX gátlás nettó intracelluláris Ca^{2+} növekedést okozva pozitív inotróp hatású és kis AP plató potenciál csökkenést hoz létre. A pozitív inotróp hatás az NCX reverz potenciáljának megváltozásával magyarázható, ugyanis a megemelkedett intracelluláris Ca^{2+} mellett az NCX reverz potenciálja magasabb potenciál értékeket vesz fel és főleg *forward* módban működik. Az NCX gátlásával csökken a Ca^{2+} eltávolítás a sejtből, így megnő a CaT, ami miatt az I_{CaL} ioncsatornán sejtbe beáramló Ca^{2+} mennyisége csökken (a Ca^{2+} influx egyenlő kell, hogy legyen a Ca^{2+} efluxxal). Ez a csökkenés az áram amplitúdójában okozhatja részben ezt az AP plató potenciál csökkenést.

Összegezve az eredményeinket azt mondhatjuk, hogy a Na^+ indukálta Ca^{2+} túltelítődésben az NCX mindkét módjának az aktivitása nő, de a *reverz* mód mégis dominánsabb ebben az állapotban. Az NCX mindkét módjának gátlása elméletileg antiaritmiás hatású lehet, de ugyanakkor a *reverz* mód gátlásnak ezen esetekben nagyobb jelentősége lehet, mivel így az intracelluláris Ca^{2+} tartalom csökken, ami magával vonja a *forward* mód csökkenését is, így a DAD amplitúdó nagysága és kialakulásának esélye csökken.

5. KONKLÚZIÓ ÉS AZ EREDMÉNYEK POTENCIÁLIS JELENTŐSÉGE

1) Eredményeinkben kimutattuk, hogy az újonnan szintetizált NCX gátlók, az ORM-10103 és az ORM-10962, hatékonyan gátolják az NCX mindkét módját. Az ORM-10962 hatékonyabb az ORM-10103-nál, ugyanis kisebb, nanomolásris EC_{50} értékkel rendelkezik.
2) Az ORM-10962 nagyobb fokú szelektivitással rendelkező NCX gátló vegyület, ugyanis még magasabb koncentrációban (1μM) sem gátolt más ionáramokat (I_{CaL}, I_{NaL}, $I_{Na\ peak}$, Na^+/K^+ pumpa, I_{Kr}, I_{Ks}, I_{to}, I_{K1}, I_f). Ugyanakkor az ORM-10103 magasabb koncentrációban (10 μM) az I_{Kr} ionáramot kis mértékben gátolja.
3) Kimutattuk, hogy a szelektív NCX gátlás az ORM-10962-al kismértékű, de szignifikáns pozitív inotróp hatású lehet. Alkalmazása CaT emelkedést és sejtrövidülést okozott, miközben az AP –t nem befolyásolta normál körülmények között a kamrai szívizomban.
4) Korábbi elméleti hipotézisekkel megegyezőleg kísérletesen is kimutattuk, hogy az NCX szerepet játszik a szív pacemaker mechanizmusában. Az NCX gátlás szignifikánsan nyújtotta a spontán AP frekvenciát kutya és nyúl Purkinje rostokon és nyúl pitvari szöveten. Ezen felül az ORM-10962 az ivabradine alkalmazása után további spontán AP frekvencianyújtó hatást mutatott, ami igazolhatja a „kapcsolt óra” elméletét.
5) Az NCX gátlás megakadályozta a digoxin indukálta automácia kialakulását és szignifikánsan csökkentette a kialakuló DAD-ok amplitúdóját. A hatásmechanizmus tanulmányozására az NCX *reverz* és *forward* módjainak gátlását külön tanulmányoztuk. Eredményeinkben azt kaptuk, hogy az NCX *forward* módjának gátlása szignifikáns pozitív inotrópiát okoz, miközben az AP nem változik, míg a *reverz* mód gátlás negatív inotróp hatású és AP megnyúlást eredményez. Ez alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a Na^+ indukálta Ca^{2+} túltelítődésben a *reverz* NCX dominánsabb szerepet tölt be, így az NCX gátlás csökkenti a CaT amplitúdót. Ezzel összefüggésben feltételezzük, hogy a digoxin indukálta DAD-ok során (ahol szintén Na^+ indukálta Ca^{2+} túltöltődés történik) a fokozott aktivitású NCX *reverz* mód gátlásának nagyobb szerepe lehet az antiaritmiás hatás kialakulásában.

6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Nagy köszönettel tartozom **Prof. Dr. Papp Gyula akadémikus** Úrnak, aki hasznos tanácsaival, motivációjával folyamatosan támogatta a kutatómunkámat és dolgozatom elkészítésében is segítséget nyújtott. Köszönöm **Prof. Dr. Varró András** intézetvetőnknek, hogy lehetővé tette a PhD munkám elkészítését a Farmakológiai és Farmakoterápia Intézetben és, hogy támogatásával sok hazai és külföldi konferencián részt vehettem.

Külön köszönettel tartozom témavezetőmnek, **Dr. Jost Norbertnek**, mind a tudományos és az életben szükséges hasznos tanácsiért, folyamatos támogatásáért, valamint, hogy felkeltette az érdeklődésemet a szívelektrofiziológia iránt.

Köszönet férjemnek, **Dr. Nagy Norbertnek** a több éves kiváló közös kollaborációért és, hogy tudását, tapasztalatát megosztotta velem. Az Ő folyamatos támogatása és tudományos nehézségekhez való optimista hozzáállása nélkül ez a PhD dolgozat nehezen készülhetett volna el.

Köszönöm a laborvezetőnknek, **Dr. Virág Lászlónak** és PhD társaimnak, **Kristóf Attilának**, **Horváth Andrásnak**, **Corici Claudiának**, **Geramipour Amirnak** az eredményes közös munka alapját képező összetartó csapatmunkát és folyamatos támogatást, segítséget a kísérletes munkákban. Köszönöm **Molnár Imréné Zsuzsának**, **Dobai Gábornak**, **Girst Gábornak** a segítőkész technikai segítségnyújtást, valamint **Dr. Acsai Károlynak** és **Dr. Ördög Balázsnak** hasznos tanácsait, ötleteit a sikeres kísérletek megtervezésében és értékelésében.

Külön köszönöm családomnak (**Kohajda Tibornak** és **Gizellának**, testvéreimnek, **Gergelynek** és **Sárának**) és barátaimnak (különös tekintettel **Dr. Somogyi Zsoltnak** és **Karolinának**), hogy odaadó szeretettükkel és folyamatos bátorításukkal támogattak.

Jelen értekezéshez készült tudományos munka, az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKA NN-109994, NK-104331, K-119992, GINOP-2.3.2-15-2016-00006 és GINOP-2.3.2-15-2016-00012), a Nemzeti Kutatás Technológiai Hivatal Baross és Jedlik Ányos Programja (REG-DA-09-2-2009-0115-NCXINHIB és NKFP_07_01-RYT07_AF), a Nemzeti Oktatási Minisztérium - Új Nemzeti Kiválóság Programja (UNKP-16-3-IKT/147-1787/8/2016-ÖSZT-95), HU-RO Határon Átnyúló Együttműködési Programok (HURO/1001/086/2.2.1_HURO-TWIN) és a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült.

Külön köszönet az Finnországi Orion Pharma cég által rendelkezésünkre bocsátott ORM-10103 és ORM-10962 vegyületekért, amelyekkel a kísérleteinket végezhettük.

Department of Pharmacology and Pharmacotherapy
University of Szeged
Director: András Varró M.D., Ph.D., D.Sc.
Dóm tér 12., 6720 Szeged
Tel.: +36.62.545-682
Fax: +36.62.545-680
e-mail: a.varro@phcol.szote.u-szeged.hu

Alulírott, Dr. Nagy Norbert igazolom, hogy az alábbi közleményben:

Nagy N, Kormos A, Kohajda Z, Szebeni Á, Szepesi J, Pollesello P, Levijoki J, Acsai K, Virág L, Nánási PP, Papp JG, Varró A, Tóth A.

Selective Na(+) /Ca(2+) exchanger inhibition prevents Ca(2+) overload-induced triggered arrhythmias.
Br J Pharmacol. 2014 Dec;171(24):5665-81. doi: 10.1111/bph.12867.

az „Inhibition of NCX by SEA0400 and ORM10103" című alfejezet Nagy Zsófia (Leánykori név: Kohajda Zsófia) saját kísérletei alapján készült.

.....

Dr. Nagy Norbert

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
Igazgató: Prof. Dr. Varró András
6720 Szeged, Dóm tér 12.,
Tel.: (62) 545-682
Fax: (62) 545-680
E-mail: varro.andras@med.u-szeged.hu

SZTE Általános Orvostudományi Kar
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
MTA-SZTE Keringésfarmakológiai Kutatócsoport
6720 Szeged, Dóm tér 12.

Dr. Jost Norbert
tudományos főmunkatárs

Tárgy: nyilatkozat

Alulírott, Dr. Jost Norbert -mint felelős szerző- igazolom, hogy Nagy Zsófia (született Kohajda Zsófia) a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet és MTA-SZTE Keringésfarmakológiai Kutatócsoport Ph.D. hallgatója az alábbi közleménnyel kapcsolatos, patch-clamp technikával történő mérésekben, elemzésekben tevékenyen részt vett, ezért eredményeit felhasználhatja PhD értekézéshez. Ezen eredmények nem kerülnek felhasználásra más Ph.D. értekezésben.

Jost N, Nagy N, Corici C, Kohajda Z, Horváth A, Acsai K, Biliczki P, Levijoki J, Pollesello P, Koskelainen T, Otsomaa L, Toth A, Papp JGy, Varró A, Virág L. ORM-10103, a novel specific inhibitor of the sodium/calcium exchanger, decreases early and delayed afterdepolarization in the canine heart. British Journal of Pharmacology, 170, 768-778, 2013.

Szeged, 2017.02.21

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM Általános Orvostudományi Kar Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet 2 SZEGED

Dr. Jost Norbert
PhD témavezető