

**AZ ANTIARITMIÁS ÉS PROARITMIÁS HATÁSOK
MECHANIZMUSÁNAK CELLULÁRIS SZINTŰ
VIZSGÁLATA EMLŐSSZÍVEKBEN**

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

JOST NORBERT LÁSZLÓ



**Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
és
MTA-SZTE Keringésfarmakológiai Kutatócsoport**

Szeged

2019

Tartalomjegyzék

TARTALOMJEGYZÉK	1
BEVEZETÉS, IRODALMI ÁTTEKINTÉS	3
A téma indokoltsága és a szakmai indíttatásom	3
Az értekezés témaköreinek irodalmi hátterei	6
1. témakör: Különböző antiaritmiás szerek celluláris hatásainak vizsgálata emlősszíveken	6
2. témakör: A szívizom repolarizációjában részt vevő különböző K^+ -csatornák kölcsönhatásának vizsgálata. A repolarizációs tartalék fogalma és jelentősége emlős kamraizmon	7
3. témakör: A pitvarfibrillációs remodelling celluláris hatásmechanizmusainak vizsgálata emlősszíveken	8
4. témakör: Az NCX gátlás lehetséges antiaritmiás hatásmechanizmusának vizsgálata emlősszíveken	9
CÉLKITŰZÉSEK	10
MÓDSZEREK ÉS ANYAGOK	10
Vizsgált speciesek és etikai engedélyek	10
Elektrofiziológiai vizsgálati módszerek	11
Árammérési protokollok izolált szívpreparátumokon	11
Akcións potenciál mérések	12
EKG mérés izolált perfundált (Langendorff) tengerimalac szíven	12
Anyagok	12
Statisztikai analízis	13
EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS	13
1. témakör. Különböző antiaritmiás szerek celluláris hatásainak vizsgálata emlősszíveken	13
A dronedaron (SR-33589) elektrofiziológiai hatásainak vizsgálata kutya kamrai szívizom preparátumokon	13
A tedisamil (KC-8857) elektrofiziológiai hatásainak vizsgálata emlősszívekből izolált kamrai szívizomsejteken	14
Az amiodaronszerű GYKI-16638 vizsgálata emberi szívizom preparátumokon	15
2. témakör. A szívizom repolarizációjában részt vevő különböző K^+ -csatornák kölcsönhatásának vizsgálata. A repolarizációs tartalék fogalma és jelentősége emlős kamraizmon	16
A repolarizációs tartalék fogalma és jelentősége a kamrai aritmogenezisben	16
Az R-L3 vegyület optikai enantiomerjei eltérő módon modulálják az I_{Ks} áramot nyúl kamrai szívizomzatban	17
Az I_{Kr} és I_{K1} áramok frekvenciafüggő szerepének a vizsgálata kutya kamrai akcións potenciálban	17
3. témakör. A pitvarfibrillációs remodelling celluláris hatásmechanizmusainak vizsgálata emlősszíveken	18
A G-protein által szabályozott acetilkolin-szenzitív káliumáram ($I_{K,ACh}$) konstitutíven aktív permanens pitvarfibrilláló betegeken	18

<i>Repolarizáló káliumáramok tulajdonságainak vizsgálata szinuszritmusú és pitvarfibrilláló kutyákból izolált pitvari szívizomsejteken</i>	19
4. témakör. Az NCX gátlás lehetséges antiaritmiás hatásmechanizmusának vizsgálata emlősszíveken.....	20
<i>Az ORM-10103 és GYKB-6635, új kísérletes szelektív NCX ioncsatorna gátlószer vegyületek hatásainak vizsgálata emlősszíveken.....</i>	20
<i>Az NCX áram gátlása SEA-0400 vegyülettel szinusz ritmusos és permanens pitvarfibrilláló betegekben</i>	21
ÚJ EREDETI TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA ÉS KÖVETKEZTETÉSEK	22
ZÁRÓGONDOLATOK, AVAGY MIT ÉRTEM EL TÖBB MINT 20 ÉV KARDIOVASZKULÁRIS KUTATÓMUNKA ALATT (AZ 5 LEGFONTOSABB TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEM BEMUTATÁSA).....	26
PUBLIKÁCIÓK ÉS SCIENTIOMETRIAI ADATOK	29
Az értekezés alapját képező eredeti, összefoglaló (review) közlemények és könyvek illetve könyvfejezetek.....	29
<i>Eredeti közlemények:</i>	29
<i>Összefoglaló (review) közlemények és könyvek illetve könyvfejezetek.....</i>	30
Az értekezés témájához kapcsolódó (de nem bemutatott) eredeti és összefoglaló (review) közlemények (SCI szerinti impakt faktor és független idézetek számával megadva) 31	
Az értekezés témájához nem kapcsolódó eredeti és összefoglaló (review) közlemények, könyvfejezetek illetve monográfia szerkesztések.....	32
(SCI szerinti impakt faktor és független idézetek számával megadva)	32
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	36

Bevezetés, irodalmi áttekintés

A téma indokoltsága és a szakmai indíttatásom

Napjainkban nemcsak Magyarországon, de világszerte is a szív és érrendszeri megbetegedések a vezető halálokok között szerepelnek a rosszindulatú daganatos betegségek mellett. A magyar statisztikai adatok alapján a kardiovaszkuláris megbetegedéseken belül a leggyakrabban előforduló kórképek a szív iszkémiás betegségei, a heveny szívizom elhalás és nem utolsósorban a különböző aritmiák talaján kialakuló hirtelen szívhalálok.

A szívritmuszavar (aritmia) népegészségügyi probléma. A kardiális morbiditás és mortalitás szempontjából a szívritmuszavar leggyakoribb formái a pitvarfibrilláció és a kamrai tachycardia/kamrafibrilláció. A szívritmuszavar a normál szív működés során az elektromos impulzusban bekövetkező változások összességére vonatkozik. A szívritmuszavar a szív működésben történt olyan változás, amely eltér a normális szinusz ritmustól (SR). Oka lehet az ingerképzés zavara, ingerületvezetési zavar vagy mindkettő. Az aritmia nem egyenlő az irreguláris szív működéssel. Az aritmiák által okozott tünetek igen sokfélék, az alig érzékelhetőtől az életveszélyes állapotig terjednek. Fizikai terhelés, felfokozott érzelmi állapot, de egyes gyógyszerek is emelhetik vagy csökkenthetik a szívverések számát anélkül, hogy az kóros lenne. A normális szívfrekvencia 60-80 ütés percenként, és minden egyes szívdobbanással adott mennyiségű vér lökődik ki a keringésbe. Szívritmuszavarok számos, eltérő okokkal és tünetekkel rendelkező formában jelentkezhetnek. Eredetük alapján pitvari vagy kamrai aritmiáról, a szívfrekvenciára gyakorolt hatásuk alapján tachycardiáról vagy bradycardiáról beszélhetünk.

A szívritmuszavarok kezelése korábban elsősorban a konzervatív klinikai eszköztár segítségével történt. A 20. században számos új kardiovaszkuláris gyógyszert fejlesztettek ki, és azon belül is az antiaritmiás kezelés palettája rendkívül változatos volt. Az antiaritmiás gyógyszereket az ismert a 4 osztályba soroló Vaughan Williams szerinti klasszifikáció alapján csoportosították. Bár a Vaughan Williams szerinti felosztás talán már kissé elavultnak tekinthető, ma is használt annak ellenére, hogy az antiaritmiás szerek valójában komplex hatásmechanizmusuk miatt nehezen sorolhatók be az eredeti klasszifikáció alapját képező hatások külön-külön csoportjaiba. Az aritmiák gyógyszeres kezelése még mindig számos problémát vet fel, ugyanis az antiaritmiás szerek hatékonyságának vizsgálata során kimutatták a szerek mellékhatásainak tulajdonított mortalitás növekedést. A CAST (Cardiac

Arrhythmia Suppression Trial, 1989) vizsgálatban a túlélőkben a szívinfarktust követő aszimptomatikus vagy enyhe szimptomatikus kamrai aritmiában nézték az enkainid, flekainid vagy moricizin hatását a hirtelen szívhalál kialakulásának rizikójára. Az átlagosan 10 hónapos utánkövetési idő alatt a gyógyszeresen kezelt betegek között magasabb volt az aritmia miatt bekövetkezett halál, mint a placebóval kezelt betegekben. A SWORD (Survival With Oral D-sotalol, 1996) vizsgálat célja a magas rizikójú betegekben megállapítani, hogy a klinikailag jelentős β -blokkoló hatással nem rendelkező, tiszta K^+ csatorna gátló *d*-sotalol képes-e csökkenteni a mortalitást. A vizsgált betegekben a *d*-sotalol alkalmazása növelte a mortalitást, ami a szer proaritmiás hatásának tulajdonítható.

A CAST és SWORD negatív hatásainak eredményeképpen alig maradt olyan gyógyszerkészítmény, amelyet a kardiológusok különösképpen a kamrai ritmuszavarok megelőzésére vagy kivédésére meg tudtak tartani. Gyakorlatilag kimondható, hogy a CAST és SWORD vizsgálatok okozta űrt, azóta sem sikerült betölteni, hiszen 1996 óta egyetlen igazi áttörést hozó új antiaritmiás készítményt sem sikerült kifejleszteni, törzskönyvezni és széleskörűen bevezetni a klinikai gyakorlatba. Egyedül talán csak a dofetilidid és részben a dronedaron azok a készítmények, amelyek újonnan kerültek a Vaughan Williams palettára, de egyik készítmény sem jelent forradalmi újítást a korábban létező és sajnos a proaritmia miatt kiesett gyógyszerkészítmények pótlására. Óhatatlanul felmerül a kérdés, hogy „Miért?” - vagyis miért nem sikerült egy negyed évszázad alatt sem áttörést elérni, amikor az orvosbiológiai kutatások más területén azért jelentős eredményeket értünk el a különböző betegségek mechanizmusainak megismerésében, és ennek következtében a terápiában is. Ráadásul különféle statisztikák mutatják ki, hogy jelentős mennyiségű szellemi és anyagi forrást mozgósítottak/mozgósítanak meg világszerte a kardiológiai és azon belül az aritmia-kutatásban is.

A fentieket a következőképpen foglalhatjuk össze. A kardiológiában történt előre lépések ellenére korábban a gyógyszeres kezelés inkább empirikus úton történt, ugyanis nem voltak teljesen ismertek sem az aritmiák kialakulásának élettani és kórélettani okai, sem a gyógyszerek pontos hatásmechanizmusa, amellyel megelőzik, elnyomják, vagy bizonyos esetekben kiválthatják magát az aritmiát (proaritmiás mellékhatás). Az alacsonyabb proaritmiás mellékhatással rendelkező, hatékony antiaritmiás szerek kifejlesztése érdekében fontos a szerek hatásmechanizmusának alaposabb megértése mind szervi, szöveti, celluláris és szubcelluláris szinten. És ez az a terület, ahol jelentős szerepet vállalhat egy alap és alkalmazott kutatást végző akadémiai jellegű kutatócsapat is.

A Szegedi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézete több évtizede nemzetközileg is elismert akadémiai kutatóműhely a kardiovaszkuláris szerek fejlesztése terén. 1995-ben PhD hallgatóként kapcsolódtam be az intézet kutatásaiba a Papp Gyula és Varró András professzorok által vezetett Szívelektrofiziológiai Munkacsoportba. Kutatásaim fő célja az emberi kamrai szívizomzat repolarizációt meghatározó káliumáramok vizsgálata köré fókuszálódtak elsősorban. Jelentős eredményeket értünk el a kamrai késői egyenirányító káliumáram humán kamrai szívizomsejtekben történő jellemzése területén, amely kutatások részét képezték a 2000-ben „*Summa cum laude*” minősítéssel megvédett „*Pharmacological modulation of the rapid and slow components of the delayed rectifier potassium current in various mammalian cardiac cells*” című PhD értekezésemnek. A munka célja a kamrai repolarizáció celluláris szintű vizsgálata volt, hogy megértsük a klasszikus III-as osztályú antiaritmiás mechanizmus lényegét. A vezérelv új amiodaron-szerű vegyület(ek)nek a kifejlesztése volt, mert az amiodaron az egyetlen olyan antiaritmiás szerünk, amely valóban hatékony az aritmiák kivédése terén, és gyakorlatilag mentes a kamrai proaritmiás mellékhatásoktól, habár egyéb extrakardiális mellékhatásai nem jelentéktelenek. Számos új antiaritmiás vegyületet sikerült akár saját ötletek alapján (GYKI-16638), akár gyógyszergyárral kooperációban (dronedaron, tedisamil) megvizsgáljunk.

Kiterjedt vizsgálatsorozatot indítottunk a kamrai és pitvari repolarizációt meghatározó elsősorban káliumáramok, majd később a nátrium-kalcium cseremechanizmus tanulmányozása céljából különböző emlősszívekből származó kamrai és pitvari mintákon. A vizsgálatok célpontja az volt, hogy megismerjük a kamrai repolarizációt meghatározó transzmembrán ionáramok tulajdonságait, és azon belül annak felderítése, hogy miképpen változnak, ha egyáltalán megváltoznak az áramok tulajdonságai beteg állapotban, és ez miképpen befolyásolhatja a szív aritmogenezisét. Ismert volt a vizsgálatsorozat előtt, hogy a repolarizációt több káliumáram is szabályozza, ezért célul tűztük ki, hogy felderítsük, hogy miért van arra szükség, hogy a repolarizációt több kálium-ionáram is szabályozza, hogy miként hatnak egymásra, melyik áramnak lehet kiemeltebb szerepe az aritmogenezisben, és ezáltal melyik áram lehet a kiemelt gyógyszer-támadáspont. Ez segíthet megérteni, hogy miért bizonyultak proaritmiás hatásúaknak az amúgy rendkívül hatékony I és III-as osztályú antiaritmiás készítményeink, és értelemszerűen így lehetőség nyílna olyan gyógyszer-támadáspontokat azonosítani, amelyekre építve már hatékony proaritmiamentes készítményeket fejleszthetnénk ki. Külön vizsgálatsorozatot indítottunk a pitvarfibrilláció celluláris mechanizmusának a felderítésére. A vizsgálatok arra irányultak, hogy

megállapítsuk milyen változások történnek a pitvari izomzatban, amelyek szerepet játszhatnak a betegség progrediens kialakulásában, és ezáltal melyek lehetnek a pitvarszelektív gyógyszer-támadáspontok kamrai proaritmiamentes gyógyszerek kifejlesztése céljából.

Mindezt összefoglalva a jelen MTA doktori értekezésben bemutatom a PhD fokozatom megszerzése utáni tudományos kísérletes tevékenységemet. Az értekezésben az eredményeimet az előzőekben ismertetett elvek alapján a következő **összesen négy látszólag talán eltérőnek tűnő, de valójában nagyon is fókuszált és összefüggő témakörbe** csoportosítva kívánom bemutatni:

- 1. témakör.** Különböző antiaritmiás szerek celluláris hatásainak vizsgálata emlősszíveken.
- 2. témakör.** A szívizom repolarizációjában részt vevő különböző K^+ -csatornák kölcsönhatásának vizsgálata. A repolarizációs tartalék fogalma és jelentősége emlős kamraizmon.
- 3. témakör.** A pitvarfibrilláció okozta remodelling celluláris hatásmechanizmusainak vizsgálata emlősszíveken.
- 4. témakör.** Az NCX gátlás lehetséges antiaritmiás hatásmechanizmusának vizsgálata emlősszíveken.

Az értekezés témaköreinek irodalmi hátterei

1. témakör: Különböző antiaritmiás szerek celluláris hatásainak vizsgálata emlősszíveken

A Cardiac Arrhythmia Suppression Trial vizsgálatok (CAST I-II) bebizonyították, hogy a Vaughan Williams I/C hatástípusú Na^+ -csatornagátló antiaritmiás gyógyszerek (flekainid, enkainid, moricizin) az iszkémiás eredetű kamrafibrilláció (VF) fellépését megkönnyítő ún. profibrilláns hatás révén –a post-infarktusos kamrai extrasystolia látványos szuppressziója ellenére– növelik a teljes és hirtelen halálozást. Az a felismerés, hogy a supraventricularis és kamrai tachyritmiák túlnyomó többsége az impulzus körforgásán (reentry) alapszik és az ingerületvezetést lassító Na^+ -csatornagátlók nem ritkán inkább elősegítik a reentry-aktivációt, paradigma-váltáshoz vezetett, ami elsősorban abban nyilvánult meg, hogy a gyógyszerfejlesztésben résztvevő kutatók és a klinikusok érdeklődése egy másik alapvető antiaritmiás+antifibrilláns terápiás princípium, a repolarizáció gyógyszeres megnyújtása felé fordult. A károsodott bal-kamrafunkciójú post-infarktusos betegeken *d*-sotalollal végzett prospektív, randomizált, kettős-vak SWORD (Survival With ORal D-sotalol) vizsgálat mindazonáltal azt bizonyította, hogy az I_{Kr} szelektív gyógyszeres blokkja is

jelentős proaritmia-kockázattal és mortalitás-növekedéssel szövődik. Az APD-t és ERP-t megnyújtó gyógyszerjelöltek kutatása természetesen a SWORD után is folytatódott, az új cél azonban már nem „tisztá” I_{Kr} -ionáramgátlók, hanem olyan „multichannel” („dirty drug”), vagy ún. „amiodaron-szerű” antiaritmikumok kifejlesztése volt, amelyekben a repolarizációt megnyújtó (III-as osztályú) hatás egyéb, előnyösnek vélt farmakológiai tulajdonsággal (kombinált III+I/B, II és/vagy IV osztályú aktivitás) ötvözve jelentkezik.

A Sanguinetti-Jurkiewicz hipotézis felvetéseit követve több vegyület vizsgálatát tűztük ki célul. Ezek között voltak olyan új originális innovatív gyógyszerjelölt molekulák, mint az amiodaron kongéner vegyület az SR-33589 (dronedaron), az amiodaronszerű tulajdonságokkal felruházott kombinált III+I/B osztályú GYKI-16638, valamint a multichannel gátló molekulaként kifejlesztett KC-8857 (tedisamil).

2. témakör: A szívizom repolarizációjában részt vevő különböző K^+ -csatornák kölcsönhatásának vizsgálata. A repolarizációs tartalék fogalma és jelentősége emlős kamraizmon

Számos nem szívre ható gyógyszer repolarizáció megnyúlást idéz elő a kamrai szívizomban és a Purkinje rostokban egyaránt azáltal, hogy egy vagy több káliumáramot blokkol. Ma már köztudott, hogy az akciós potenciál időtartamának megnyúlása bizonyos helyzetekben proaritmiás szövődményhez (*Torsades de Pointes* típusú kamrai tachycardia) vezethet, melynek következtében növekszik a gyógyszer okozta összmortalitás. A kamrai repolarizáció a sejtbe befelé haladó, mint például a gyors Na áram (I_{Na}) és L-típusú kalciumáram (I_{Ca}) és a sejtből kifelé haladó ionáramok, mint például a tranziens kifelé irányuló kálium áram (I_{to}), a késői egyenirányító káliumáram gyors (I_{Kr}) és lassú komponense (I_{Ks}) valamint a befelé egyenirányító káliumáram (I_{K1}) finom egyensúlyaként jön létre. A klinikai tapasztalatok azt mutatták, hogy fiziológiás körülmények között a káliumcsatornák egyetlen típusának sérülése vagy gyógyszeres gátlása kifejezett, potenciálisan veszélyes APD megnyúlást várhatóan nem eredményez, mivel a többi káliumáram megfelelő repolarizációs plusz kapacitást képes biztosítani. Ezt a jelenséget nevezte el Roden professzor „repolarizációs tartaléknak” („*repolarization reserve*”). Munkacsoportunk egy teljesen más megközelítésben jutott el a repolarizációs tartalék fogalmához, amelynek az lett az eredménye, hogy az I_{Ks} transzmembrán káliumáram élettani szerepének tisztázása során **kísérletes bizonyítékokkal** elsőként igazoltuk a repolarizációs rezerv jelentőségét a túlzott mértékű repolarizáció megnyúlás következtében kialakuló aritmiás kockázat megnövekedésébe. Jelen munkánk célja az volt, hogy a celluláris

elektrofiziológia eszköztárát felhasználva, megvizsgáljuk az egyes káliumáramok egymás közötti kölcsönhatását, és kísérletesen igazoljuk a repolarizációs tartalék lehetséges szerepét a kamrai szívizom repolarizációja során. Kísérleteinkben megvizsgáltuk az I_{Ks} és I_{K1} áramok szelektív gátlásának hatásait kutya, illetve egészséges emberi kamrai APD-re miután a repolarizációs tartalékot szelektív I_{Kr} gátlással, illetve a szimpatikus stimuláció fokozással előzetesen legyengítettük.

3. témakör: A pitvarfibrillációs remodelling celluláris hatásmechanizmusainak vizsgálata emlősszíveken

A pitvarfibrilláció (AF) a leggyakoribb, hirtelen/aritmogén szívhalált csak ritkán okozó, klinikai lefolyását tekintve azonban korántsem „benignus” szívritmuszavar, amely a jelenlegi becslések szerint az Európai Unióban $\approx 4,5$, az USA-ban $\approx 2,5$ millió embert sújt. AF-ben a fiziológiás körülmények között koordinált pitvari tevékenység helyett teljesen rendezetlen, kaotikus, óriási frekvenciájú (cca. 600-800/min) gyors excitáció jellemezi a pitvarok elektromos működését, amelyek lényegében véve vonaglanak, érdemi mechanikai tevékenységre (összehúzódásra és ellazulásra) képtelenek. A pitvarfibrilláció egy progrediens betegség, amelynek típusai több fázisban alakulnak ki: i) - Első alkalommal felismert; ii) paroxizmális pitvarfibrilláció; iii) perzisztens pitvarfibrilláció; iv) permanens pitvarfibrilláció; v) élethossziglan fennálló.

Az AF kórélettanának megismerése rendkívül sokat fejlődött az elmúlt 20 évben, melynek során bekerült a köztudatba az atrialis remodelling, azaz a pitvari átépülés fogalma. Minden, az AF során előálló pitvari strukturális/szerkezeti, funkcionális/elektrofiziológiai és szignáltranszdukciós/biokémiai elváltozást összefoglalóan pitvari remodellingnek nevezünk. A pitvari remodellingnek számos (részben a kiváltó alapelbetegségtől függő) formája/típusa van, mindemellett közös jellemzőjük, hogy elősegítik az AF kiújulását, perzisztenciáját, tartós (*long-standing*) perpetuációját vagy állandósulását. Fontos megértenünk ennek a komplex pitvari remodelling folyamatnak a lefolyását, amelynek első eleme az ún. elektromos remodelling, amelynek az alapja az, hogy pitvarfibrillációban a gyors frekvencia következtében értelemszerűen megváltozik a pitvarok elektrofiziológiai aktivitása, például lerövidül az APD és ERP, valamint számos ionáram tulajdonsága megváltozik. Jelen vizsgálatsorozat egyik célja a permanens pitvarfibrilláció indukálta „ioncsatornaszintű” remodelling jellemzése. Vizsgálataink két irányba indultak. Az első cél az volt, hogy megállapítsuk mi a G-protein által szabályozott acetilkolin-szenzitív káliumáram ($I_{K,ACh}$) szerepe a pitvari elektromos remodellingben krónikus hosszan tartó AF-

ben szenvedő betegektől származó miocitákban. A másik cél egy kísérletes permanens pitvarfibrillációs modell kiépítése valamint *in vivo* és *in vitro* elektrofiziológiai elemzése lehetőleg egy olyan az emberéhez hasonló elektrofiziológiai profillal rendelkező nagytű emlősben, mint amilyen a kutya.

4. témakör: Az NCX gátlás lehetséges antiaritmiás hatásmechanizmusának vizsgálata emlősszíveken

Az élet fenntartásához nélkülözhetetlen szívperctérfogat biztosításának alapvető feltétele a szívizomzat megfelelő mechanikai aktivitása, valamint az összehúzódás és elernyedés precíz időbeli/térbeli szervezése. A kontrakció-relaxáció (mechanikai) ciklus-szabályozása szorosan kapcsolódik az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) dinamikus szabályozásához (Ca^{2+} homeosztázis). Ennek egyik fontos kritikus szereplője a plazmamembrán $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélője (NCX). A $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ cseremechanizmus passzív folyamat, energetikai háttérét a Na^+/K^+ pumpa biztosítja. A transzport iránya reverzibilis, azaz az NCX-nek két alapvető transzport módja van, Ca^{2+} eltávolító (*forward*: Ca^{2+} leadás, Na^+ felvétel), illetve Na^+ eltávolító (*reverse*: Ca^{2+} felvétel, Na^+ leadás) jellemző. *Forward* módban az NCX cseremechanizmus három befelé haladó Na^+ -iont cserél ki egy kifelé haladó Ca^{2+} -ionra, és így egy nettó *inward* áramot eredményez, amely különösen megemelkedett intracelluláris Ca^{2+} -szint esetében korai vagy főleg késői utódepolarizációkat eredményez (EAD és DAD). Közismert, hogy az EAD és DAD típusú utódepolarizációknak fontos szerepet tulajdonítanak az aritmogenezisben, különösen abban az esetben, ha a kálium konduktancia csökkent, mint például szívelégtelen állapotokban. Ennek megfelelően a különböző tachyaritmiás állapotok (kamra- de különösen pitvarfibrilláció) kialakulásában és fenntartásában is alapvető komponens az NCX fokozott működése következtében kialakuló intracelluláris Ca^{2+} -túltelítődés, mely proteázok aktiválásán keresztül hozzájárul a strukturális és elektromos remodellinghez, a pitvarfibrillációra jellemző „aritmogén szubsztrát” gyors kialakulásához. Így az NCX *forward* módjának farmakológiai gátlása új terápiás lehetőséget jelenthet a pitvarfibrilláció ill. Ca^{2+} -dependens kamrai aritmiák kezelésében. Hatékony és szelektív NCX gátlószerek hiányában ennek a hipotézisnek az ellenőrzése és igazolása nem volt lehetséges. Nemzetközi és hazai partnerekkel végzett kooperációs kutatási projektben sikeresen megvizsgáltunk néhány szelektívnek gondolt hatékony NCX gátlót (ORM-10103 és GYKB vegyületek) *in vitro* és *in vivo* jellegű kutya és tengerimalac kísérletekben. Ezenkívül szintén nemzetközi

ko-operációban megvizsgáltuk az NCX áram szerepét szinusz-ritmusos, illetve permanens pitvarfibrilláló betegek szívéből származó humán pitvari szívizomsejteken.

Célkitűzések

Elsődleges célkitűzésem **négy, elméleti és klinikai szempontból egyaránt fontos kérdéskör** vizsgálata volt:

1. *In vitro* elektrofiziológiai módszerekkel tisztázni számos új vagy régi fejlesztésű antiaritmiás hatású gyógyszer és¹ gyógyszerjelölt vegyület celluláris mechanizmusát különböző (kutya, tengerimalac, nyúl és egészséges emberi) emlősszíveken.
2. *In vitro* elektrofiziológiai módszerekkel megvizsgálni a szív repolarizációját meghatározó K^+ -áramok közötti kölcsönhatásokat, valamint a K^+ -áramok szerepét a szív repolarizációs adaptációs mechanizmusában (repolarizációs tartalék) emlősszíveken.
3. *In vitro* és *in vivo* elektrofiziológiai módszerekkel megvizsgálni a hosszan tartó permanens pitvarfibrilláció (cAF) patofiziológiai hatásait (például az cAF okozta remodelling hatásait), valamint a pitvarfibrilláció kivédésének új kamrai proaritmiamentes farmakológiai lehetőségeit emlősszíveken.
4. *In vitro* és *in vivo* jellegű elektrofiziológiai módszerekkel megvizsgálni a nátrium-kalcium cseremechanizmus (NCX) antiaritmiás támadáspontként történő gyógyszeres befolyásolhatóságának lehetőségeit emlősszíveken.

Módszerek és anyagok

Vizsgált speciesek és etikai engedélyek

A vizsgálatokat kísérletes állatok (kutya, nyúl, tengerimalac) és emberi szívekből származó pitvari és kamrai preparátumokon végeztük. Kezeletlen felnőtt 8-20 kg súlyú keverék kutyákat, 1.5-2 kg súlyú új-zélandi házinyulakat, illetve 300-500 g súlyú tengerimalacokat használtunk. A kísérleti eljárások megfeleltek az Európai Közösség (2010/63/EU direktíva), illetve az USA laboratóriumi állatok tartására és felhasználására vonatkozó irányelveinek (USA: NIH publication no 86-23, revised 1985). Kísérleti protokolljaink rendelkeztek a Szegedi Tudományegyetem Munkahelyi Állatkísérletes Bizottsága (SZTE MÁB) (54/1999 OEj, I-74-66/2005 és I-74-6/2012 sz.), valamint a Csongrád Megyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc Biztonsági és Állategészségügyi Igazgatósága (XIII./01031/000/2008 és XIII/1211/2012 sz.) engedélyeivel.

Az emberi szívekből származó preparátumokat aortabillentyű beültetéshez használt egészséges emberi donorszívek nyesedékéből illetve szinuszritmusos vagy permanens pitvarfibrilláló koronária bypass műtéten átesett betegek szívéből származó jobb pitvari fülcsedarabkákból származtak. A szív kivétele előtt a szervdonor furosemid, dobutamin és plazma kivételével nem részesült más gyógyszerkezelésben. A kísérleti eljárások megfeleltek az Orvos Világszövetség (WMA) Helsinki Nyilatkozatának előírásaival (Cardiovasc Res 35:2-4, 1997; LAM 24:133-136, 2014), és rendelkeztek a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Orvosetikai Bizottsága (51-57/1997 OEj sz.), a SZTE Orvosetikai Bizottsága (20/2004 sz.), a Drezdai Műszaki Egyetem Carl Gustav Carus Orvosi Kar Orvosetikai Bizottsága (EK790779 sz.), illetve az Egészségügyi Tudományos Tanács-TUKEB (4991-0/2010-1018EKU-339/PI/010 sz.) megfelelő etikai engedélyeivel.

Elektrofiziológiai vizsgálati módszerek

Árammérési protokollok izolált szívpreparátumokon

A sejteket egy inverziós mikroszkóp (Nikon TMS és Olympus IX51 típusúak) asztalához rögzített szervfürdőbe helyeztük, amit a legtöbbször normál fiziológiás hőmérsékletű (36-37 °C) Tyrode oldattal (NaCl 144, KCl 4.0, NaH₂PO₄ 0.4, MgSO₄ 0.53, HEPES 5, glukóz 5.5, CaCl₂ 1.8 (pH 7.4 NaOH-val beállítva) áramoltattunk át. A mikropipettákat boroszilikátüveg kapillárisokból mikroprocesszor-vezérelt horizontális pipettahúzóval (Sutter Instruments) készítettük. A patch-clamp mikropipettákat különböző, az intracelluláris teret modellező oldatokkal töltöttük fel annak függvényében, hogy éppen milyen áramokat vizsgáltunk. Az áramokat Axopatch 1D és Axopatch 200B (Molecular Devices) patch-clamp erősítőkkel mértük, egészsejtes (*whole-cell*) patch-clamp konfigurációban. A membránáramokat 5-20 kHz mintavételi frekvenciával számítógépesen vezérelt Digidata 1200-1400 típusú analóg-digitális konverterekkel digitalizáltuk, majd *off-line* analízis céljára számítógépesen tároltuk. Az így tárolt áramméréseket szoftver segítségével (Axon pClamp 6.0-10.0 szoftvercsalád) értékeltük. A befelé egyenirányító és a G-fehérje vezérelt acetilkolin szenzitív káliumáramok (I_{K1} és I_{K,ACh}) vizsgálata „*single-channel*” árammérési protokollok „*cell-attached*” patch-clamp kísérletekben. Az egycsatornás „*single-channel*” áramokat az ún. sejt-rögzített (*cell-attached*) konfigurációban határoztuk meg. A következő áramokat vizsgáltuk:

- gyors *inward* nátriumáram (I_{Na}); késői nátriumáram (I_{NaL}); tranziens kifelé haladó K⁺-áram (I_{to}); a késői egyenirányító K⁺-áram gyors és lassú komponense (I_{Kr} és I_{Ks}); befelé

egyenirányító K^+ -áram (I_{K1}); L-típusú kalciumáram ($I_{Ca,L}$); nátrium-kalcium csereáram (I_{NCX}); a Na^+/K^+ pumpaáram ($I_{Na/K}$); acetilkolinszenzitív káliumáram ($I_{KA,Ch}$).

Akciós potenciál mérések

A kísérletekhez a kutya, nyúl, tengerimalac szívekből, *illetve* az egészséges emberi szívizomnyesedékekből a jobb kamrai papilláris izmot vagy Purkinje rostot preparáltuk ki, majd 37 °C-os oxigenizált Locke-oldattal átáramoltatott szervfürdőben rögzítettük. A transzmembrán akciós potenciálokat 5-20 M Ω ellenállású, 3 M/l KCl-dal feltöltött, konvencionális üvegkapilláris mikroelektrodán keresztül nagy ellenállású erősítőbe vezettük (Biologic Amplifier), majd oszcilloszkóp (Tetronix 2230) segítségével monitoroztuk. Az elektromos jelet analóg-digitális konverziót (ADA 3300 Data Acquisition Board) követően IBM kompatibilis számítógépbe tápláltuk. A maximális diastoles potenciált, az akciós potenciál amplitúdóját és 90%-os repolarizációjának megfelelő időtartamát (APA és APD₉₀) az intézetben kifejlesztett értékelő program (Hugo Sachs Elektronik, Action Potential Evaluation System) segítségével mértük.

EKG mérés izolált perfundált (Langendorff) tengerimalac szíven

A kísérletekben minkét nemhez tartozó tengerimalacokat használtunk, melyek testtömege 300-500g volt. Az állatok eutanáziáját nátrium pentobarbitál túlaltatással végeztük. A mellkas felnyitás után a szívet gyorsan kivágtuk, a bal aorta ívet kanuláltuk majd állandó nyomáson (80 mmHg), 37°C-os fiziológiás Krebs–Henseleit oldattal Langendorff módszerrel retrográd perfundáltuk. Az EKG jeleket saját készítésű elektróda kosárral vezettük el. A kamrai nyomást a bal pitvaron keresztül behelyezett latex ballon segítségével mértük. A perfúziós áramlást ultrahangos flow-méterrel követtük. Az adatokat folyamatos regisztrálását többcsatornás szoftvervezérelt rendszer segítségével végeztük. Az aritmiák kiváltásához ouabaint használtunk. Az ouabain perfúziót követően a megjelenő aritmiák típusát és megjelenési idejét figyeltük. Így megkülönböztettünk kamrai extra beütéseket (VEB), kamrai tahycardiát (VT) és kamrafibrillációt (VF). Az aritmia típusok meghatározásához a Lambeth féle egyezmény útmutatóját használtuk.

Anyagok

A különböző extracelluláris (fiziológiás) tápoldatokhoz (Tyrode, Locke, Krebs–Henseleit) és intracelluláris (pipettaoldatokhoz) oldatokhoz szükséges legtöbb vegyszert és

kémiai reagenst a Molar Kft (Budapest) és Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) finomvegyyszereket gyártó cégektől vásároltuk. Minden végső oldatot a kísérlet napján frissen készítettünk. A vizsgálati anyagokat többnyire 500-1000 szerez koncentrációjú törzsoldatokban tároltuk, és a kísérlet előtt adagoltuk a vizsgálatban kívánt koncentrációban a tápoldatban feloldva. A legtöbb vegyületet vízben, etanolban, vagy dimetilszulfoxidban (DMSO) oldottuk fel. A 0.01% koncentrációban rutinszerűen használt etanol, illetve DMSO szívízomsejtekre gyakorolt hatását általában elhanyagolhatónak tekintik.

Statisztikai analízis

A statisztikai számításokat Origin, Excell vagy Statistica 7.0-9.0 verziók) programokkal végeztük. A kísérletek során meghatározott (mért vagy számított), a mérési artefaktokra szükség szerint korrigált adatokat általában számtani átlag $\pm$ SEM formában adjuk meg. Két egyszerű kísérleti csoport adatainak összehasonlítására a Student félé páros vagy páratlan *t*-tesztet használtuk. Kettőnél több kísérleti csoport összehasonlítása esetén, az adott körülményektől függően, Bonferroni, vagy Tukey *post hoc* tesztel kiegészített egy, vagy több szempontú, illetve, a csoportok közötti varianciák homogenitásától függően, parametrikus, vagy nemparametrikus (Kruskal-Wallis félé) variancia-analízist (ANOVA) alkalmaztunk. A kísérleti csoportokat statisztikusan szignifikánsan különbözőnek $p < 0.05$ esetben tekintettük.

Eredmények és megbeszélés

1. témakör. Különböző antiaritmiás szerek celluláris hatásainak vizsgálata emlősszíveken

A dronedaron (SR-33589) elektrofiziológiai hatásainak vizsgálata kutya kamrai szívízom preparátumokon

A dronedaron fejlesztése a CAST/SWORD vizsgálatok kudarcos eredménye után kezdődött. A kiinduló pontot az adta, hogy a széles palettájú Vaughan Williams listán gyakorlatilag egyetlen olyan antiaritmiás szer, az amiodaron maradt, amely hatékonyan kivédi a ritmuszavarokat és valóban mentes a súlyos proaritmiás mellékhatásoktól. Ez az észrevétel indította el az úgynevezett „*amiodaron-szerű*” antiaritmikumok kifejlesztésének sorozatát. Minderre azért volt szükség, mert az amiodaron viszont jelentős extrakardiális mellékhatással rendelkezik. Ismert, hogy az amiodaron jellemzően tüdőfibrózist, illetve a jó d molekulá miatt hipertireozist okozhat. A fenti két állítás magában hordozta a fejlesztés

irányát, vagyis azt, hogy készítsünk egy jódmentes amiodaront. Ez volt kiinduló pont a dronedaron kifejlesztésénél. A kísérletes munka nemzetközi ko-operációban készült a Sanofi-Aventis Gyógyszergyár innovatív gyógyszerfejlesztési részlegének munkatársaival. Kísérleteink során az amiodaronnal összehasonlítva megvizsgáltuk a jódmentes amiodaron kongéner vegyület dronedaron vegyület akut és krónikus hatását *in vivo* és *in vitro* körülményekben éber kutya modellben, illetve kutya Purkinje rostokban, papilláris izomban és izolált kamrai szívműködősejtekben. Eredményeinket a következőképpen foglalhatjuk össze:

- 1. A dronedaron -az amiodarontól eltérően- krónikusan alkalmazva nem nyújtotta meg jelentősen a kutya kamrai AP-t. Az akut dronedaron kezelés viszont már az amiodaronhoz hasonló módon mérsékelten rövidítette a Purkinje rostok, ill. mérsékelten nyújtotta a papilláris izom repolarizációját. Az akutan alkalmazott dronedaron csekély mértékben csökkentette a V_{max} értéket.**
- 2. Az akutan alkalmazott dronedaron jelentősen gátolta az I_{Ca} és I_{Kr} áramokat, de nem változtatta meg a többi repolarizáló áramot (I_{to} , I_{K1} és I_{Ks} áramok). Az akut dronedaron alkalmazás jelentősen csökkentette mindkét triggerelt aritmogén automácia típust (EAD és DAD).**

Kísérleteink alapján azt a következtetést vonjuk le, hogy az akutan alkalmazott dronedaron hasonló tulajdonságokkal rendelkezik, mint az amiodaron, ami magyarázhatja a gyógyszer *in vivo* hatásait. Ugyanakkor a szer, az amiodarontól eltérően, krónikusan alkalmazva nem okozott jelentős elektrofiziológiai változásokat, konkrétan fogalmazva nem rendelkezik a krónikus amiodaron kezelésre jellemző ismert markáns antiaritmiás hatással. Eredményeink azt sugalmazzák, hogy a jódmolekula hiánya okozza a krónikusan alkalmazott dronedaron és amiodaron hatások közötti eltéréseket.

A tedisamil (KC-8857) elektrofiziológiai hatásainak vizsgálata emlősszívekből izolált kamrai szívműködősejteken

A tedisamil a vizsgálat elkészítésének idejében (1999-2001) egy ígéretes kísérletes antiaritmiás gyógyszerjelölt szernek bizonyult. Számos korábbi vizsgálat megerősítette, hogy a szer megnyújtja a kamrai akciós potenciál időtartamát (APD) és a QT intervallumot, amely hatás hátterében a szernek különböző transzmembrán ionáramokra (I_{Na} , I_{to} , I_{KATP}) kifejtett hatása állhat. Ez a tanulmány volt viszont az első olyan kísérlet-sorozat, amelyben szisztematikusan megvizsgálták, hogy mi lehet a tedisamil a repolarizáció megnyújtó hatásának a celluláris szintű mechanizmusa. Ezért megvizsgáltuk a tedisamil a hatását a

legfontosabb transzmembrán ionáramokra (I_{Na} , I_{Kr} , I_{Ks} , I_{to} , I_{KATP} , I_{K1} és I_{Ca} áramok). Eredményeinket a következőképpen foglalhatjuk össze:

1. *A tedisamil nyúlszív kamrai miocitákban jelentősen csökkentette az I_{to} áram amplitúdóját. Az I_{to} áram amplitúdójának csökkenése mellett jelentősen felgyorsította az I_{to} -áram inaktivációs kinetikáját is. Ezzel szemben a tedisamil kutya kamrai miocitákban még a magasnak tekinthető 10 μM koncentrációban sem gátolta az I_{to} áramot.*
2. *A tedisamil jelentősen gátolta a késői egyenirányító káliumáram mindkét komponensét az I_{Kr} és I_{Ks} áramot is. A tedisamil jelentősen gátolta a cromakalimmal aktivált I_{KATP} áramot. Végezetül kimutattuk, hogy a tedisamil hatékonyan gátolja a nátrium áramot, amelyet az AP depolarizáció maximális sebességént (V_{max}) vizsgáltunk.*

Eredményeink alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a tedisamil komplex „multichannel” gátló hatásnak eredményeképpen a vegyület kombinált III+IA/B szerű antiaritmiás hatással rendelkezik. Mindezeket figyelembe véve feltételezhetjük, hogy a tedisamil különösen a pitvari aritmiák kezelésére kifejlesztett gyógyszerjelöltként lehet eredményes.

Az amiodaronszerű GYKI-16638 vizsgálata emberi szívizom preparátumokon

Kísérleteink célja a GYKI-16638 vegyület elektrofiziológiai hatásainak a vizsgálata volt egészséges humán kamrai preparátumokon. Mivel a GYKI-16638 tervezésekor a kiinduló szempont az volt, hogy a vegyület rendelkezzen III+I/B kevert hatással, ezért összehasonlítottuk a GYKI-16638 kísérletes vegyület elektrofiziológiai hatásait a sotalol és mexiletin antiaritmiás gyógyszerekével.

Eredményeinket a következőképpen foglalhatjuk össze:

1. *A GYKI-16638 a sotaloltól eltérően frekvenciafüggetlen módon nyújtotta meg a kamrai repolarizációt egészséges humán donorszívekből származó kamrai preparátumokon. Ezzel párhuzamosan a GYKI-16638 a mexiletinhez hasonlóan csak a normálisnál magasabb frekvenciákon („use dependens” módon) gátolta a nátrium áramnak megfelelő V_{max} paramétert.*
2. *A GYKI-16638 amiodaron-szerű hatással rendelkezik.*

Fentiek alapján megállapíthatjuk, hogy a GYKI-16638 vegyület hasonló tulajdonságokkal rendelkezik, mint az amiodaron, de szerkezete eltér attól, és mint ilyen

valóban egy új ígéretes „amiodaron-szerű” kísérletes szer, amely az eddigi preklinikai jellegű vizsgálatok alapján egy javaslandó új antiaritmiás gyógyszerjelölt.

2. témakör. A szívizom repolarizációjában részt vevő különböző K^+ -csatornák kölcsönhatásának vizsgálata. A repolarizációs tartalék fogalma és jelentősége emlős kamraizmon

A repolarizációs tartalék fogalma és jelentősége a kamrai aritmogenézisben

Vizsgálataink célja az volt, hogy további vizsgálatokkal meghatározzuk a repolarizációs tartalék lehetséges szerepét és az egyes káliumáramok egymás közötti kölcsönhatását kamrai szívizom repolarizációja során. Kísérleteinkben megvizsgáltuk az I_{Ks} , I_{K1} és I_{to} áramok szelektív gátlásának hatásait kutya, illetve egészséges emberi kamrai APD-re miután a repolarizációs tartalékot szelektív I_{Kr} gátlással, illetve a szimpatikus stimuláció fokozással előzetesen legyengítettük. Eredményeinket a következőképpen foglalhatjuk össze:

- 1. A munkánk legfontosabb megállapítása az, hogy a kamrai repolarizációban nemcsak I_{Kr} , hanem az I_{K1} és az I_{to} áramok is jelentős szerepet játszhatnak. Az I_{Ks} a korábbi elképzelésekkel ellentétesen csak kismértékben aktiválódik a normál fiziológiás akciós potenciál feszültségtartományban. Kimutattuk azt is, hogy az I_{Ks} és I_{K1} gátlása előzetes I_{Kr} blokkolás jelenlétében jelentősen megnöveli a fordított frekvenciafüggő repolarizáció megnyúlást.***
- 2. Eredményeink alapján úgy gondoljuk, hogy talán át kellene értékelni a gyógyszerek QTc megnyújtást okozó hatásával kapcsolatos gyógyszerbiztonsági koncepcióinkat.***

Mindent összevetve a következő következtetéseket lehet levonni. Kutya, illetve emberi kamrai szívizmon egyféle típusú kálium csatorna gátlása önmagában extrém APD megnyúlást nem eredményez. Ez valószínűleg annak a következménye, hogy a különböző kálium csatornák képesek helyettesíteni és/vagy kiegészíteni egymás működését. A kutya és humán kamrai szívizomsejtek repolarizációja túlbiztosított, vagyis „repolarizációs tartalékkal” rendelkeznek. Amikor ez a repolarizációs tartalék valamilyen oknál fogva sérül (gyógyszerhatás, szívbetegség okozta remodelling, fokozott szimpatikus aktivitás, genetikai rendellenesség, stb.) az egyébként csekély vagy mérsékelt kálium csatorna gátlás is okozhat erőteljes és potenciálisan proaritmiás kamrai akciós potenciál megnyúlást. Ezért az olyan gyógyszerek alkalmazása, amelyek egyszerre több kálium-csatornát is gátolnak, feltehetően veszélyesebb lehet, mint egyetlen adott specifikus kálium csatornát gátló szer használata. A gyógyszerek lehetséges QT intervallum növelő hatásának vizsgálatára vonatkozó tesztek

érdeemesnek tűnik átértékelni, és a különböző tesztek nemcsak érintetlen, hanem gyengített repolarizációs tartalékú preparátumokon is el kellene végezni.

Az R-L3 vegyület optikai enantiomerjei eltérő módon modulálják az I_{Ks} áramot nyúl kamrai szívműködésben

A vizsgálatok célja egy I_{Ks} aktivátor vegyületnek a fejlesztése és beazonosítása és antiaritmiás szerként történő hasznosítása, amelynek ötlete szintén a már említett Jurkievicz és Sanguinetti által megfogalmazott hipotézisnek és a repolarizációs rezerv fogalomnak egyik logikus következménye. Előzetes kísérletes eredmények következtében felmerült az a gondolat, hogy egy RL-3 nevű vegyület két optikai enantiomerje ellenkező hatással modulálhatja az I_{Ks} áramot konkrétan a jobbra forgató *d*-enantiomer aktiválja, amíg az *l*-enantiomer inkább gátolja az I_{Ks} -áramot. Ezért a kémiai partnerünk segítségével két vegyületet szintetizáltunk, az ZS_1270B (jobbra forgató) és a ZS_1271B (balra forgató) vegyületeket amelyek enantiomerjei a racém R-L3 vegyületnek, és megvizsgáltuk a hatásukat az I_{Ks} áramra és kamrai akciós potenciálra nyúl és tengerimalac kamrai preparátumokon.

Eredményeinket a következőképpen foglalhatjuk össze:

- 1. Az RL-3 racém vegyület két optikai enantiomerje valóban ellentétes hatással modulálja az I_{Ks} -áramot.***
- 2. A jobbra forgató és I_{Ks} -áram aktiváló enantiomer vegyület (ZS_1270B) rövidítette, amíg a balra forgató és I_{Ks} -áram gátló enantiomer vegyület (ZS_1271B) pedig megnyújtotta a tengerimalac akciós potenciál időtartamot.***

Fentieket úgy foglalhatjuk össze, hogy a jobbra forgató és I_{Ks} -áram aktiváló enantiomer vegyület (ZS_1270B) alkalmas farmakológiai szer annak az ellenőrzésére, hogy az I_{Ks} aktivátorok valóban antiaritmiás szerek lehetnek olyan ritmuszavarokban, amelyek a megnyúlt akciós potenciálok talaján erednek (például EAD triggerelt aritmiák).

Az I_{Kr} és I_{K1} áramok frekvenciafüggő szerepének a vizsgálata kutya kamrai akciós potenciálban

A jelen vizsgálat célja az I_{Kr} és I_{K1} áramok ciklushossz-függő szerepének a vizsgálata kutya kamrai repolarizációban. Ismert, hogy mindkét áram jelentős *inward* irányú rektifikációs tulajdonságokkal rendelkezik, emiatt az áramokat nehézkes tanulmányozni klasszikus *voltage-clamp* módszerekkel, ahol négyszögjel pulzusként alkalmazzuk a vezérlő potenciálokat a szívműködésekre. Jelen tanulmányban ezért valódi akciós potenciálokat

alkalmaztunk vezérlő pulzusként, és farmakológiai ágenseket használtunk az áramok szétválasztása céljából.

A következő eredményeket kaptuk:

1. *Az I_{Kr} és I_{K1} áramok amplitúdói egyértelműen nem mutattak ciklushossz-függő tulajdonságokat, amikor megváltoztattuk az akciós potenciál paramétereit. Az I_{Kr} és I_{K1} áramok nem változtak meg sem az akciós potenciál hosszúság, sem a repolarizáció ciklushosszáinak függvényében.*
2. *Az I_{Kr} és I_{K1} áramok összefüggő módon játszanak szerepet az akciós potenciál repolarizációjában.*

Végkövetkeztetésül megállapíthatjuk, hogy kutya szívizomzatban az akciós potenciál jelformája nem befolyásolja a repolarizációs fázist leginkább meghatározó I_{Kr} és I_{K1} áramok nagyságát az akciós potenciál időtartama alatt. Mindez azt jelenti, hogy az AP ciklushossz függő változásai nem befolyásolják az I_{Kr} és I_{K1} áram ciklushossz-függő tulajdonságait.

3. témakör. A pitvarfibrillációs remodelling celluláris hatásmechanizmusainak vizsgálata emlősszíveken

A G-protein által szabályozott acetilkolin-szenzitív káliumáram ($I_{K,ACh}$) konstitutíven aktív permanens pitvarfibrilláló betegekben

A kísérletek célja az volt, hogy megvizsgáljuk és összehasonlítsuk a háttér befelé egyenirányító, valamint a G-protein által szabályozott acetilkolin-szenzitív (I_{K1} és $I_{K,ACh}$) káliumáramok szerepét koronária bypass műtétekre menő szinuszritmusos és krónikus pitvarfibrilláló (cAF) betegek pitvari szívizomsejtjeiben. A vizsgálatokat az Ursula Ravens professzor asszony vezette drezdai munkacsoporttal végeztem ko-operációban. A következő eredményeket kaptuk:

1. *Igazoltuk, hogy a megemelkedett (upregulált) I_{K1} csatorna expresszió mellett a csatornák megemelkedett single-channel nyitási valószínűsége is hozzájárul a cAF-ben tapasztalt magasabb háttéráramhoz. A következő szilárd bizonyítékokat szolgáltatottuk egy M-receptor agonista független, ún. „konstitutíven aktív” $I_{K,ACh}$ csatornák jelenlétére: i) a szelektív $I_{K,ACh}$ gátlószer tertiapin cAF betegben az SR betegektől eltérően lecsökkentette a háttéráramot; ii) az M-receptor antagonistá atropin gátlásának hiánya igazolja a konstitutíven aktív $I_{K,ACh}$ csatornák agonista függetlenségét; iii) single-channel patch-clamp kísérletek csak a cAF betegekben*

igazolták a konstitutíven aktív $I_{K,ACH}$ áram jelenlétét; iv) tertiapin jelenlétében a konstitutíven aktív $I_{K,ACH}$ csatornák nyitási valószínűsége alacsonyabb volt.

2. A konstitutíven aktív $I_{K,ACH}$ csatornák molekuláris jellemzői egyelőre ismeretlenek.

Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a pitvarfibrillációban (AF) tapasztalt jelentős akciós potenciálváltozás (*elektromos remodelling*) háttérében az acetilkolin-szenzitív káliumáram ($I_{K,ACH}$) működésének jelentős átrendeződése is szerepet játszik. Kimutattuk, hogy permanens AF-ben az $I_{K,ACH}$ áram előzetes ligandstimuláció nélkül is folyamatosan („konstitutívan”) aktív, így pitvarfibrillációban jelentős repolarizáló áramot szállít. Ez a konstitutívan aktív $I_{K,ACH}$ repolarizáló áram viszont hozzájárul az AF-re jellemző APD rövidüléséhez, és következésképpen a szívritmuszavar kialakulásához és fennmaradásához. Mindez azt jelenti, hogy az $I_{K,ACH}$ áram blokkolása fontos gyógyszerátadási pont („*drug target*”) lehet AF-ban, konkrétan olyan AF ellenes gyógyszerek kifejlesztésére alkalmazható, amelyek kamrai proaritmia-mentesek lehetnek.

Repolarizáló káliumáramok tulajdonságainak vizsgálata szinuszritmusú és pitvarfibrilláló kutyákból izolált pitvari szívizomsejteken

Kísérleteink célja a pitvari repolarizációban és AF-ben előálló elektromos átépülésben (*remodelling*) szerepet játszó kálium-ionáramok (I_{to} , I_{K1} és $I_{K,ACH}$) tanulmányozása volt. Méréseinket SR-ben lévő és gyors pitvari ingerléssel kiváltott AF-ben szenvedő kutyákból izolált pitvari szívizomsejteken végeztük. A következő eredményeket kaptuk:

- 1. Az AF-ben szenvedő kutyákból izolált miocitákban az I_{to} kis mértékben gyengült, és az áram inaktivációja is lelassult az SR-os állatok miocitáihoz hasonlóan. Az I_{K1} az „AF-sejteken” intenzívebbnek bizonyult, mint SR-ben.***
- 2. A pitvarspecifikus $I_{K,ACH}$ ionáram aktiválásához egy kolinerg agonista szer (carbachol; CCh) alkalmazására volt szükség. 2 μ M CCh hatására az „SR-sejteken” a befelé és kifelé haladó $I_{K,ACH}$ egyaránt megnőtt. Az „SR-sejteken” aktivált outward áramot a tertiapin, az $I_{K,ACH}$ szelektív gátlószere, jelentősen lecsökkentette. Az AF-sejteken, minden előzetes aktiváció nélkül, jelentős, konstitutívan aktív $I_{K,ACH}$ áramot mértünk, amelyet a tertiapin szintén nagymértékben gátolt. Ha az „AF-sejteket” carbachollal kezeltük, a konstitutív $I_{K,ACH}$ ionáramon kívül szignifikáns ligandfüggő de szintén tertiapin szenzitív $I_{K,ACH}$ ionáram jelent meg.***

Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy a pitvari I_{to} áram a lassú inaktivációs kinetika miatt a pitvari szívműködésben jelentősebb mértékben hozzájárulhat a késői repolarizációhoz, mint amelyet a kamrai szívműködésben kimutattak. Az I_{to} áram kutya-modellünkben a human adatokkal ellentétben, csak kis mértékben *downregulálódott* AF-ben, viszont inaktivációs kinetikája szignifikánsan lassult. A konstitutív $I_{K,ACh}$ megjelenése bizonyítja, hogy AF kutya-modellünkben a pitvari elektromos remodelling kialakult. A ligandfüggő és konstitutívan aktív $I_{K,ACh}$ áramok együttesen feltehetően fontos szerepet játszanak (legalábbis kutya-ban) az AF-re jellemző háromszög alakú, a fiziológiásnál is rövidebb akcióspotenciál-jelforma kialakításában. A ligand és ligandfüggetlen (konstitutívan aktív) $I_{K,ACh}$ áram szelektív gátlása sikeresen kivédte a burst ingerléssel kiváltott pitvarfibrillációs ritmuszavarokat.

4. témakör. Az NCX gátlás lehetséges antiaritmias hatásmechanizmusának vizsgálata emlősszíveken

Az ORM-10103 és GYKB-6635, új kísérletes szelektív NCX ioncsatorna gátlószer vegyületek hatásainak vizsgálata emlősszíveken

A vizsgálatok célja az volt, hogy ellenőrizzük a Bers és Pogwizd által elméleti megfontolások alapján megfogalmazott hipotézist, amely szerint a szelektív NCX áram gátlók hatékony szerek lehetnének az a Ca^{2+} -túltelítődés talaján kialakuló, elsősorban DAD indukálta triggerelt aritmiák kivédésében. Sajnos hatékony és szelektív NCX gátlószerek hiányában ennek a hipotézisnek az ellenőrzése és igazolása korábban nem volt lehetséges.

Kísérletes munkánk kezdetén ezért elsősorban arra volt szükség, hogy azonosítsunk olyan vegyületeket, amelyek mindkét működési irányban hatékonyan és szelektíven gátolják az NCX áramot. Nemzetközi (Orion Gyógyszergyár) és hazai ko-operációban (SZTE, GYTK Gyógyszerkémiai Intézet) megvizsgáltuk két újonnan szintetizált és az előkísérletek alapján igen szelektívnek vélt NCX-gátlót, az ORM-10103 és GYKB-6635 vegyületeket *in vitro* és *in situ* farmakológiai vizsgálatokban. A következő eredményeket kaptuk:

- 1. Kutya kamrai miocitákban vizsgálva az ORM-10103 és GYKB-6635 vegyületek koncentráció-függő módon gátolják az NCX áramot mind forward és rezerv módban.***
- 2. A szelektív NCX gátlás (1 Hz-n mérve) nem változtatta meg a kamrai akciós potenciál jelformát és meghatározó paramétereit beleértve a depolarizáció maximális sebességét (V_{max}), AP amplitúdót (APA) valamint a kamrai platót és repolarizációt jellemző APD_{25} , APD_{50} és APD_{90} értékeket. A szelektív NCX gátlás hatékonyan kivédte a farmakológiai módon előidézett triggerelt aritmiákat EAD és DAD).***

Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy az ORM-10103 hatékonyan kivédte kutya kamrai preparátumokon, a farmakológiai módon előidézett korai (EAD) vagy késői utódepolarizációs potenciálokat (DAD), valamint a strophantin-nal provokált spontán depolarizáció által beindított kamrai extraszisztolé sorozatokat. A GYKB-6635 vegyület pedig hatékonyan kivédte az ouabain indukálta, vagyis szintén a DAD által triggerelt aritmiákat izolált tengerimalac szívekben. Ez a tény már önmagában is érdekes és új eredmény, ugyanis ez volt az első vizsgálat, amely kimutatta, hogy egy NCX gátló vegyület hatékonyan kivédi a farmakológiai módon indukált szívritmuszavarokat egy EKG paramétereket regisztráló (ektópiás ütések, kamrai tachycardiát és kamrafibrillációt) *in situ* aritmiamodelben.

Az NCX áram gátlása SEA-0400 vegyülettel szinusz ritmusos és permanens pitvarfibrilláló betegekben

Ez a kutatási téma valójában vegyesen a **3. és 4. témakörhöz** is kapcsolódik, ugyanis a vizsgálatok célja az volt, hogy tanulmányozzuk az NCX áram szerepét permanens pitvarfibrillációban. A vizsgálatokat Kovács Péter Pál PhD hallgatóm részvételével szintén az Ursula Ravens professzor asszony vezette drezdai munkacsoporttal végeztük kooperációban. Az NCX áram gátlására, és a humán pitvari akciós potenciálokon történő hatásának vizsgálatára ezúttal a viszonylag szelektív SEA-0400 vegyületet használtuk. A következő eredményeket kaptuk:

- 1. A SEA-0400 vegyület nem változtatta meg a pitvari trabekula izmokban regisztrált akciós potenciálok jelformáját, a pitvari sejtekben ramp pulzusokkal (ún. Hobai modell) regisztrált és Ni^{2+} -szenzitív áramként definiált forward és reverz NCX áramot sem SR, sem cAF betegekből származó pitvari mintákon.***
- 2. Egy másik kísérletes felállásban (ún. Hilgemann protokoll) a SEA-0400 koncentráció-függő módon gátolta az NCX áramot.***

Eredményeinket úgy foglalhatjuk össze, hogy igazoltuk: i) az NCX áram egyértelműen expresszált az emberi pitvari szívizomzatban, és amplitúdója magasabb volt a cAF, mint a SR betegekből származó mintákban; ii) annak ellenére, hogy az NCX áram magasabb cAF betegekből, mint SR-ből, a SEA-0400 gátló hatása intracelluláris Na^+ koncentráció-függő, vagyis konkrétan csak magas intracelluláris Na^+ -szint jelenlétében gátolja az NCX áramot.

Új eredeti tudományos eredmények összefoglalása és következtetések

Kardiovaszkuláris élet- és kórélettan jellegű vizsgálatok:

1. Elektrofiziológiai módszerekkel megvizsgáltuk az I_{Kr} és I_{Ks} áramnak a repolarizációban játszott szerepét különböző emlősszívekből (ember és kutya) származó kamrai preparátumokon. Megállapítottuk, hogy az I_{Kr} áram szelektív gátlása jelentősen és fordított frekvenciafüggő módon nyújtja meg az akciós potenciál időtartamát és ennek megfelelően az effektív refrakter periódust, amiből arra következtetünk, hogy az I_{Kr} a legfontosabb repolarizáló kamrai K^+ -áram. Ez a reverz frekvenciafüggő megnyújtó tulajdonság okozza az I_{Kr} gátlószerekre jellemző proaritmiás hatásokat, mint amilyen például a korai utódepolarizációs potenciál szubsztrátumra épülő, életet veszélyeztető polimorf kamrai *Torsades de Pointes* típusú aritmia is. Az I_{Ks} ezzel szemben és a várakozásokkal ellentétben csak csekély mértékben nyújtotta meg az APD-t, ami azt jelenti, hogy az I_{Ks} csak kis mértékben járul hozzá közvetlenül a normál kamrai repolarizációhoz. Amennyiben az akciós potenciált előzetesen mesterségesen (farmakológiailag) megnyújtottuk, az I_{Ks} áram gátlása már jelentős repolarizáció megnyúlást eredményezett. Ebből arra következtetünk, hogy az I_{Ks} egy fontos tartalék áram szerepét játssza, ami segíthet megvédeni az akciós potenciált a káros, túlzott megnyúlástól.

2. Az előző vizsgálatot további repolarizáló áramokra is kiterjesztve (I_{K1} , I_{to}) megállapítottuk, hogy kutya, illetve emberi kamrai szívizmon egyféle típusú kálium csatorna szelektív gátlása önmagában extrém APD megnyúlást nem eredményez. Ha az I_{K1} vagy I_{Ks} áramot előzetesen, például szelektív I_{Kr} gátlással előidézett megnyújtott AP-on mértük, mindannyiszor extrém, sőt potenciálisan aritmogén korai utódepolarizáció (EAD) megnyúlást tapasztaltunk. Ez valószínűleg annak a következménye, hogy a különböző kálium csatornák képesek helyettesíteni és/vagy kiegészíteni egymás működését. A kutya és a humán kamrai szívizomsejtek repolarizációja túlbiztosított, vagyis erős „**repolarizációs tartalékkal**” rendelkeznek. Amikor ez a repolarizációs tartalék valamilyen oknál fogva sérül (gyógyszerhatás, szívbetegség okozta „*remodelling*”, fokozott szimpatikus aktivitás, genetikai rendellenesség, stb.) az egyébként csekély vagy mérsékelt kálium csatorna gátlás is okozhat már erőteljes és potenciálisan proaritmiás kamrai akciós potenciál megnyúlást. Az olyan gyógyszerek alkalmazása, amelyek egyszerre több kálium csatornát is gátolnak, feltehetően veszélyesebbek lehetnek, mint egyetlen adott specifikus kálium csatornát gátló szer használata. A gyógyszerek lehetséges QT intervallum növelő hatásának vizsgálatára

vonatkozó tesztek (például hERG vizsgálatok *high-throughput* rendszerekkel) érdemesnek tűnik átértékelni, és a különböző tesztek nemcsak érintetlen, hanem gyengített repolarizációs tartalékú preparátumokon is fontos lenne elvégezni.

3. Megállapítottuk, hogy a pitvarfibrillációban (AF) tapasztalt jelentős akciós potenciál változás („*elektromos remodelling*”) háttérében nemcsak a már korábbról ismert kalcium (I_{Ca}) és befelé egyenirányító káliumcsatornák (I_{K1}), hanem az acetilkolin szenzitív káliumáram ($I_{K,ACh}$) működésének jelentős átrendeződése is szerepet játszik. *In vitro* elektrofiziológiai módszerekkel („*single-channel*” patch-clamp) kimutattam, hogy AF-ben az $I_{K,ACh}$ áram előzetes ligandstimuláció nélkül is folyamatosan („*konstitutívan*”) aktív, így pitvarfibrillációban jelentős repolarizáló áramot szállít, amely hozzájárul az AF-re jellemző akciós potenciál időtartamnak a rövidüléséhez. Ez egyben azt is jelenti, hogy az $I_{K,ACh}$ áram modulálása (például gátlása) fontos gyógyszerterápiási pont („*target*”) lehet AF-ben alkalmazható, proaritmia-mentes antiaritmias gyógyszerek kifejlesztéséhez.

4. Saját fejlesztésű tachypacelt AF kutyamodellben kimutattuk, hogy a pitvari I_{to} áram a lassú inaktivációs kinetika miatt a pitvari szívműködésben jelentősebb mértékben hozzájárulhat a késői repolarizációhoz, mint amelyet a kamrai szívműködésben kimutattak. A konstitutív $I_{K,ACh}$ megjelenése bizonyítja, hogy AF kutyamodellünkben a pitvari elektromos remodelling kialakult. A ligandfüggő és konstitutívan aktív $I_{K,ACh}$ áramok együttesen feltehetően fontos szerepet játszanak (legalábbis kutyában) az AF-re jellemző háromszög alakú, a fiziológiánál is rövidebb akcióspotenciál-jelforma kialakításában. A ligand és ligandfüggetlen (konstitutíven aktív) $I_{K,ACh}$ áram szelektív gátlása sikeresen kivédte a burst ingerléssel kiváltott pitvarfibrillációs ritmuszavarokat.

5. Megállapítottam, hogy a kutya szívműködésében az akciós potenciál jelképe nem befolyásolja a repolarizációs fázist leginkább meghatározó I_{Kr} és I_{K1} áramok nagyságát az akciós potenciál időtartama alatt. Mindez azt jelenti, hogy az AP ciklushossz függő változásai nem befolyásolják az I_{Kr} és I_{K1} áram ciklushossz-függő tulajdonságait.

6. Igazoltuk, hogy az RL-3 racém vegyület két optikai enantiomerje valóban ellentétes hatással modulálja az I_{Ks} -áramot. A jobbra forgató ZS_1270B vegyület az I_{Ks} áram hatékony aktivátora, míg a balra forgató enantiomer ZS_1271B pedig hatékonyan gátolja az I_{Ks} áramot. A két optikai enantiomer ráadásul hasonló koncentráció tartományban rendelkezik ezzel az ellentétes hatással. A jobbra forgató és I_{Ks} -áram aktiváló enantiomer vegyület (ZS_1270B) rövidítette, amíg a balra forgató és I_{Ks} -áram gátló enantiomer vegyület

(ZS_1271B) pedig megnyújtotta a tengerimalac akciós potenciál időtartamot. Mindezek alapján feltételezhető, hogy a jobbra forgató és I_{Ks} -áram aktiváló enantiomer molekula (ZS_1270B) alkalmas tesztvegyület annak az ellenőrzésére, hogy az I_{Ks} aktivátorok valóban antiaritmiás szerek lehetnek olyan ritmuszavarokban, amelyek a megnyúlt akciós potenciálok talaján erednek (például EAD által triggerelt aritmiák).

7. Az I_{K1} áram DCM-es betegekből származó szívekből izolált miocitákban mind *inward*, mind *outward* tartományban nagyobb amplitúddal rendelkezik, mint az egészséges kontroll szívekből származó emberek szívéből izolált szívizomsejtekben, vagyis az áram jelentősen felülszabályozódik („*upregulálódik*”). Immunfluoreszcencia kísérleteink egyértelműen igazolják, hogy egyértelmű ko-lokalizáció mutatható ki a Kir2.1 és SAP97, illetve a Kir2.2 és SAP97 alegységek között. Fentiek alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az asszociált Kir2.x és SAP97 alegységek megváltoznak a betegség alatt, ezért felvethető az a hipotézis, hogy a ko-lokalizált Kir2.x és SAP97 csatornák gyógyszerátadáspontok lehetnek a cardiomiopátia kezelésében.

Kardiovaszkuláris farmakológiai jellegű vizsgálatok:

8. Igazoltuk, hogy más speciesek (például kutya és patkány) pitvari és kamrai szívizomzatban hatékony NCX gátlószer, a SEA-0400 vegyület nem változtatta meg a szinuszritmusban és permanens pitvarfibrillációban szenvedő betegek szívéből származó humán pitvari trabekula izmokban regisztrált akciós potenciálok jelformáját, a pitvari kontraktilitást, és a pitvari sejtekben *ramp* pulzusokkal regisztrált és Ni^{2+} -szenzitív áramként definiált *forward* és *reverz* NCX áramot. Egy másik kísérletes felállásban a SEA-0400 koncentrációfüggő módon gátolta az NCX áramot. A kísérletek igazolták, hogy az NCX áram amplitúdója magasabb volt a cAF mint, az SR betegekből származó mintákban. Ez a kísérletes megközelítés azt is igazolta, hogy annak ellenére, hogy az NCX áram magasabb cAF betegeken, mint SR-ben, a SEA-0400 gátló hatása intracelluláris nátrium koncentrációfüggő, vagyis konkrétan csak magas intracelluláris Na^+ -szint jelenlétében gátolja az NCX áramot.

9. *In vitro* elektrofiziológiai módszerekkel (standard mikroelektroda és patch-clamp technikák) megvizsgáltunk számos új potenciális antiaritmiás hatású tervezett molekulát. Megállapítottuk, hogy a GYKI-16638 és KC-8857 (tedisamil) kódjelű vegyületek különböző csatornákra kifejtett hatásuk révén kombinált multiccsatornagátló (I_{Na} , I_{Kr} , I_{Ks} , I_{to}) antiaritmiás

hatásokkal rendelkeznek. Javasoltuk mindkét vegyületnek gyógyszerjelöltté történő továbbfejlesztését.

10. *In vitro* és *in vivo* elektrofiziológiai módszerekkel megvizsgáltuk egy új jódmentes amiodaronszerű gyógyszerjelöltnek, a dronedaronnak az akut és krónikus hatásait kutya modellen. Az amiodaron a klinikai gyakorlatban leginkább használt leghatékonyabb gyakorlatilag proaritmia-mentes antiaritmiás gyógyszer, viszont a jód jelenléte miatt számos extrakardiális mellékhatása miatt korlátozott az alkalmazhatósága. Megállapítottuk, hogy mind az akutan, mind a krónikusan alkalmazott dronedaron is rendelkezik az amiodaronra jellemző multicsatornagátló (I_{Kr} , I_{Ks} , I_{Ca} , I_{Na}) antiaritmiás hatásokkal, de mivel szerkezetéből hiányzik a jódatom, feltehetőleg nem rendelkezik majd az amiodaronra jellemző extrakardiális mellékhatásokkal, ezért feltétlen javasoltuk a fejlesztés további fázisaiban történő vizsgálatát.

11. *In vitro* elektrofiziológiai módszerekkel terápiás koncentrációban nyúlmodellben megvizsgáltam három régóta alkalmazott I/A osztályú antiaritmiás gyógyszer (disopyramid, kinidin és prokainamid) hatásait a különböző repolarizáló káliumáramokra. Megállapítottam, hogy bár valamennyien a Vaughan Williams féle klasszifikáció szerinti I/A csoportba tartoznak, mégis eltérő módon gátolják a különböző K^+ -áramokat. Ez magyarázatul szolgálhat a három szernek a klinikumban is ismert eltérő hatékonyságára.

12. Kutya kamrai preparátumokban igazoltuk, hogy két újonnan szintetizált szer, az ORM-10103 és GYKB-6635 vegyületek koncentráció-függő módon gátolják az NCX áramot mind *forward* mind *rezerv* módban. Mivel a két vegyület NCX-gátló hatása magasan szelektívnek is bizonyult, ezért mindkét szer alkalmas, hogy farmakológiai ágensként használva, megvizsgálhassuk az NCX áram szerepét a szív elektrofiziológiai hatásaira. A két vegyületet használva igazoltuk, hogy: *i*) a szelektív NCX gátlás alacsony, normál és magas frekvenciákon is megvizsgálva, nem változtatja meg a kamrai akciós potenciál jelformát és meghatározó paramétereit; *ii*) a szelektív NCX gátlás hatékonyan kivédte a farmakológiai módon kísérletesen indukált DAD és EAD alapú triggerelt aritmiákat kutya *in vitro*, illetve tengerimalac *in situ* modellben.

Zárógondolatok, avagy mit értem el több mint 20 év kardiovaszkuláris kutatómunka alatt (az 5 legfontosabb tudományos eredményem bemutatása)

MTA doktori értekezésem témája a Magyarországon, és a világ fejlettebb országaiban is egyaránt vezető halálokokként azonosított betegségcsoport leküzdése céljából elkészült mintegy 23 éves kardiovaszkuláris farmakológiai munkám összegzése. 1995-ben a SWORD tanulmány kudarcait ismertető évben kerültem a Szegedi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetébe. A SWORD és az, azt megelőző CAST I-II tanulmányok együttes kudarca miatt szorult vissza a konzervatív gyógyszeres terápiára épülő kardiológiai terápia alkalmazása. Az a tény, hogy két jelentős antiaritmiás hatás is (I és III-as osztályú szerek) is a „tiltott” zónába került szinte megbénította a szívritmuszavarokat addig elsősorban gyógyszerrel kezelő kardiológus szakorvosok munkáját. Ugyanakkor újult erővel indultak be az akadémiai és innovatív gyógyszerfejlesztő kutatóműhelyekben az új típusú antiaritmiás szerek kifejlesztése céljából végzett alap és alkalmazott kutatások. A kardiovaszkuláris antiaritmiás kutatások célpontja eltolódott a hatékony gyógyszerek azonosítása irányából a biztonságosan, az ún. „safety pharmacology” elvek alapján alkalmazható szerek irányába.

Ebbe a munkába kapcsolódtam be én is, amikor tagja lettem a Papp Gyula és Varró András professzor urak vezette kutatócsoportnak. Annak idején kevés információ állt a rendelkezésünkre, hogy egyáltalán merre is induljunk. A kutató fejlesztő munka tapogatódzva indult el, és először az volt a fontos, hogy megtudjuk, hogy mik okozzák az amúgy erős antiaritmiás hatással rendelkező nátrium és káliumcsatorna gátló szerek proaritmiás mellékhatásait. A kilencvenes évek végén, kétezres évek elején jelentek meg azok a tudományos közlemények, amelyek bemutatták, hogy milyen celluláris mechanizmusok állnak a hirtelen szívhalált (SCD) okozó olyan ritmuszavarok hátterében, mint a például a *Torsades de Pointes* aritmiák. Szintén a kétezres években kezdtük megérteni a különböző genetikai eredetű SCD-t okozó betegségeket, mint például a hosszú és rövid QT-, Brugada-, Andersen-Tawill *stb.* szindrómák. A jelentős alap és alkalmazott kutatási eredmények alapján végül a következő három új fejlesztési útvonal rajzolódott ki, mint lehetséges új antiaritmiás hatással rendelkező farmakológiai célpont:

- az I_{Ks} gátlók kifejlesztése, amelyet a Sanguinetti-Jurkiewicz hipotézis indított be.
- az amiodaron tagadhatatlan sikere miatt az amiodaron-szerű inkább *multichannel* gátló szerek (vagyis kevert nátrium-, kalcium- és káliumcsatorna gátló szerek).

-a kalcium homeosztázis zavarait csökkentő szerek, vagyis eleinte a Ca^{2+} -csatorna gátló, de később különösen a nátrium-kalcium cseremechanizmust (NCX) gátló szerek.

Kutatócsoportunk is mindhárom irányvonalban elindított és folytatott alap és alkalmazott kutatásokat. 1995-ben elkezdődött tudományos munkám során magam is részt vettem ebben a kutatómunkában, és a mintegy 180 oldalas MTA doktori értekezésemben ezeket mutattam be, mintegy „honnan indultam el 1995-ben, és hova érkeztem 2018-ban” formában. Zárógondolatként a következőképpen foglalhatnám össze eredményeimet:

1. Az I_{Ks} gátló molekulák megbuktak, nem alkalmasak arra, hogy proaritmia-mentes hatékony antiaritmiás szerként alkalmazzuk ezeket. A Sanguinetti-Jurkiewicz hipotézis bár megfogalmazásakor igen plauzibilis volt, sajnos tévesnek bizonyult. Számos I_{Ks} gátló molekulát vizsgáltunk meg (chromanol 293B, L-735,821 és HMR-1556), és megállapítottuk, hogy az I_{Ks} gátlás nem nyújtja meg az repolarizációt (QTc/APD_{90}), ezért nem alkalmazhatóak reverz frekvenciafüggetlen III-as típusú antiaritmiás szerként. Ezen vizsgálatok elvégzésekor azonosítottuk a repolarizációs tartalék fogalmát, és megvilágítottuk, hogy: i) milyen celluláris mechanizmusok biztosítják a kamrai repolarizációt; ii) milyen külső vagy belső tényezők illetve körülmények között gyengül meg vagy omlik össze a repolarizációs tartalék, amelynek eredményképpen *Torsades de Pointes* aritmiák keletkeznek. Igazoltuk, hogy az I_{Ks} áram ennek a repolarizációs tartaléknak a legfontosabb eleme („key player”), és nemhogy gátolni, hanem inkább erősíteni (I_{Ks} aktivátorok) kell, hogy kivédjük az aritmiákat. Ezen munkákat több Scimago/D1 minősítésű vezető tudományos folyóiratokban publikáltuk (Circulation, J Physiol, Cardiovasc Res és Br J Pharmacol). A dolgozatokra, amelyek együttesen is több mint 450 független idézetet hoztak, három Editorial (szerkesztői méltatás) is érkezett. Elmondható, hogy a repolarizációs tartalék fogalmát ma úgy tanítják, hogy igaz, hogy Dan Roden vezette be, de a gyakorlatban a szegedi iskola bizonyította be létezését, különösen annak „safety pharmacology” jelentőségét. 2007-ben ezen munka elismeréseként részesültem a Sanofi-Aventis szakmai kutatási díjában.
2. Részt vettem az amiodaron kongéner vegyület, dronedaron kifejlesztésében. A dronedaron jelentős sikert elérő (pitvarfibrilláció kezelésére javallott) gyógyszerként robbant be a CAST/SWORD időszak utáni elveknek is megfelelni akaró újonnan kifejlesztett innovatív antiaritmiás szerek palettájába. Tény, hogy a kezdeti biztató sikerek után több klinikai vizsgálat kimutatta néhány súlyos hiányosságát is, ezért klinikai alkalmazása az utóbbi 3 évben megjelent AHA és ESC Guideline-ok alapján visszaszorulni látszik. A dronedaron

elektrofiziológiai profilját bemutató dolgozatunk szintén D1-es lapban (Br J Pharmacol) jelent meg, és már közel 100 független idézetet kapott.

3. Számos új antiaritmiás hatású gyógyszerjelölt vegyület fejlesztésében és preklinikai jellegű elektrofiziológiai vizsgálatában vettem részt, amelyek elsősorban szintén a *multichannel*-amiodaronszerű fejlesztési elvhez kapcsolódnak. Ezek közül kiemelendő az értekezésben is bemutatott tedisamil és GYKI-16638. Ezeket a vizsgálatokat Q1-es minősítésű tudományos folyóiratban megjelent dolgozatokban publikáltuk.
4. Új fejlesztésű szelektív és hatékony NCX gátló molekulák segítségével egyértelműen igazoltuk, a korábban Pogwizd és Bers által empirikus számítások alapján felvetett hipotézist, hogy az NCX gátlás rendelkezik azzal a képességgel, hogy bizonyos aritmiafajtákban csökkentse az aritmogén triggerként funkcionáló korai- és utódepolarizációs potenciálokat (EAD és DAD). Az ORM-10103 NCX gátlószer tulajdonságait bemutató D1 minősítésű lapban (Br J Pharmacol) megjelent dolgozatunkat szintén Editorialban méltatták, és 5 év alatt 21 független idézetet kapott. Véleményünk szerint a következő 2 évtizedben minden esély megvan arra, hogy megjelenjenek az NCX gátlása alapján működő első kardioaktív (antiaritmiás) szerek.
5. Végezetül, mintegy a három előbb említett fejlesztési útvonalat szintetizáló független kutatási témaként meg kell, hogy említsem a pitvarfibrilláció (AF) témakörben végzett kutatási eredményeimet is. Drezdai kollaborációs munkatársaimmal együtt egyértelműen igazoltam, hogy a hosszan tartó permanens pitvarfibrilláció alatt minden egyéb stimuláció nélkül megnyílik és ún. konstitutíven aktívvá válik a G-protein aktiválta acetilkolin-szenzitív K^+ -áram ($I_{K,ACh}$). Kísérletesen igazoltuk, hogy a konstitutívan aktív $I_{K,ACh}$ részt vesz a pitvari remodelling okozta elváltozásokban, és ennek következtében az AF fennmaradásában, ami felvetette azt a gondolatot, hogy gátlása antiaritmiás gyógyszerátadáspont lehet. Később, egy külön munkában kísérletesen igazoltuk, hogy az $I_{K,ACh}$ gátlása hatékonyan kivédi a pitvarfibrillációt. A témából publikált Circulation dolgozatunk már közel 220 független idézetet kapott.

Tehát mintegy összefoglalásként azt mondhatom el, hogy az elmúlt 23 évben munkatársaimmal együtt aktív részese voltam az antiaritmiás gyógyszerek terén az alap és alkalmazott innovatív kutatási téma fő sodrának. Jelentős, nemzetközi szinten is jegyzett eredményeket sikerült elérnem és publikálnom. Munkám során négy sikeresen védett Egyetemi doktori (PhD) értekezés témavezetője voltam, illetve nyolc olyan hazai és nemzetközi tudományos projekt témavezetését láttam el, amelynek összköltségvetése 300 millió Ft felett volt.

Publikációk és scientiometriai adatok

Az értekezés alapját képező eredeti, összefoglaló (review) közlemények és könyvek illetve könyvfejezetek
(SCI szerinti impakt faktor és független idézetek számával megadva)

Eredeti közlemények:

1. Varró A, Takács J, Németh M, Hála O, Virág L, **Jost N**, Baláti B, Ágoston M, Vereckei A, Pastor G, Delbruyère M, Gautier P, Nisato D, Papp JGy. Electrophysiological effects of dronedarone (SR 33589), a noniodinated amiodarone derivative in the canine heart: comparison with amiodarone. Br J Pharmacol, 133:625-634, 2001.
Scimago: D1 Impact factor (2001): 3.502 Citációk száma: 90
2. Opincariu M, Varró A, **Jost N**, Virág L, Hála O, Szolnoki J, Szécsi J, Bogáts G, Szenohradszky P, Mátyus P, Papp JGy. The cellular electrophysiologic effect of a new amiodarone like antiarrhythmic drug GYKI 16638 in undiseased human ventricular muscle: comparison with sotalol and mexiletine. Curr Med Chem, 9:41-46, 2002.
Scimago: D1 Impact factor (2002): 4.966 Citációk száma: 4
3. Biliczki P, Virág L, **Jost N**, Papp JGy, Varró A. Interaction of different potassium channels in cardiac repolarization in dog ventricular preparations: role of the repolarization reserve. Br J Pharmacol, 137:361-368, 2002.
Scimago: D1 Impact factor (2002): 3.450 Citációk száma: 82
4. **Jost N**, Virág L, Varró A, Papp JGy. Comparison of the effect of Class I/A antiarrhythmics on transmembrane potassium currents in rabbit ventricular myocytes. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 8:31-41, 2003.
Scimago: Q2 Impact factor (2003): - Citációk száma: 21
5. **Jost N**, Virág L, Hála O, Varró A, Thormählen D, Papp JGy. Effect of the antifibrillatory compound tedisamil (KC-8857) on transmembrane currents in mammalian ventricular myocytes. Curr Med Chem, 11:3219-3228, 2004.
Scimago: D1 Impact factor (2004): 4.382 Citációk száma: 13
6. **Jost N**, Virág L, Bitay M, Takács J, Lengyel Cs, Biliczki P, Nagy ZA, Bogáts G, Lathrop DA, Papp JGy, Varró A. Restricting excessive cardiac action potential and QT prolongation: a vital role for I_{Ks} in human ventricular muscle. Circulation, 112:1392-1399, 2005.
Scimago: Q1/D1 Impact factor (2005): 11.632 Citációk száma: 221
7. Dobrev D, Friedrich A, Voigt N, **Jost N**, Wettwer E, Christ T, Knaut M, Ravens U. The G-protein gated potassium current $I_{K,ACh}$ is constitutively active in patients with chronic atrial fibrillation. Circulation, 112:3697-3706, 2005.
Scimago: Q1/D1 Impact factor (2005): 11.632 Citációk száma: 219
8. **Jost N**. A szívizom repolarizációjában részt vevő különböző káliumcsatornák kölcsönhatásának vizsgálata emlős kamraizmon - a repolarizációs tartalék jelentősége. Cardiol Hung, 38:10-16, 2008.
9. **Jost N**, Acsai K, Horváth B, Bányász T, Baczkó I, Bitay M, Bogáts G, Nánási PP. Contribution of I_{Kr} and I_{K1} to ventricular repolarization in canine and human myocytes. Is there any influence of action potential duration? Basic Res Cardiol, 104:33-41, 2009.
Scimago: D1 Impact factor (2009): 5.973 Citációk száma: 19
10. Corici C, Kohajda Z, Kristóf A, Horváth A, Virág L, Szél T, Nagy N, Szakonyi Zs, Fülöp F, Muntean DM, Varró A, **Jost N**. R-L3 enantiomers have adverse modulating effects on I_{Ks} in rabbit ventricular myocytes. Can J Physiol Pharmacol, 91:586-592, 2013.
Scimago: Q2 Impact factor (2013): 1.546 Citációk száma: 1

11. Szűts V, Ménesi Z, Varga-Orvos Z, Zvara A, Houshmand N, Bitay M, Bogáts G, Virág L, Baczkó I, Szalontai B, Geramipour A, Cotella D, Wettwer E, Ravens U, Deák F, Puskás LG, Papp JG, Kiss I, Varró A, **Jost N**. Altered expression of genes for Kir ion channels in dilated cardiomyopathy. *Can J Physiol Pharmacol*, 91:648-656, 2013.

Scimago: Q2 Impact factor (2013): 1.546 Citációk száma:12

12. **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, Nanasi PP, Papp JGy, Varró A, Nattel S. Ionic mechanisms limiting cardiac repolarization-reserve in humans compared to dogs. *J Physiol (London)* 591:4189-4206, 2013.

Scimago: D1 Impact factor (2013): 4.544 Citációk száma: 50

13. **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. *Br J Pharmacol*, 170:768-778, 2013.

Scimago: D1 Impact factor (2013): 4.990 Citációk száma: 21

14. Geramipour A, Kohajda Zs, Corici C, Prorok J, Szakonyi Zs, Oravec K, Márton Z, Nagy N, Tóth A, Acsai K, Virág L, Varró A, **Jost N**. The investigation of the cellular electrophysiological and antiarrhythmic effects of a novel selective sodium-calcium exchanger inhibitor GYKB-6635 in canine and guinea pig hearts. *Can J Physiol Pharmacol*, 94:1090-1101, 2016.

Scimago: Q2 Impact factor (2016): 1.822 Citációk száma:0

15. Christ T, Kovács PP, Acsai K, Knaut M, Eschenhagen T, **Jost N**, Varró A, Wettwer E, Ravens U. Block of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger by SEA0400 in human right atrial preparations from patients in sinus rhythm and in atrial fibrillation. *Eur J Pharmacol*, 788:286-293, 2016.

Scimago: Q2 Impact factor (2016): 2.896 Citációk száma:4

16. Kohajda Z, Kristóf A, Horváth A, Juhász V, Ságghy L, Virág L, Baczkó I, Fazekas T, Varró A, **Jost N**. Repolarizáló káliumáramok tulajdonságainak vizsgálata szinuszritmusú és pitvarfibrilláló kutyákból izolált pitvari szívizomsejteken. *Cardiol Hung*, 47: G29-G39, 2017.

Scimago: - Impact factor (2017): - Citációk száma:-

Összefoglaló (review) közlemények és könyvek illetve könyvfejezetek

1. **Jost N**, Papp J.Gy, Varró A. Slow delayed rectifier potassium current (I_{Ks}) and the repolarization reserve (*felkért review*). *Ann Noninvas Electro*, 12:64-78, 2007.

Scimago: Q2 Impact factor (2007): 1.151 Citációk száma:49

2. Pitvarfibrilláció. A szívizomsejttől a betegágyig (*monográfia szerk.* Fazekas T, Bogáts G, Csanádi Z, **Jost N**, Lőrincz I), 556 oldal, Medicina Kiadó, 2010; ISBN: 978-963-226-303-8.

3. **Jost N**, Fazekas T. Pitvari (elektromos, kontraktilis és strukturális) remodelling. In. Pitvarfibrilláció. A szívizomsejttől a betegágyig (szerk. Fazekas T, Bogáts G, Csanádi Z, **Jost N**, Lőrincz I). pp. 91-138, Medicina Kiadó, 2010.9+55

4. **Jost N**, Fazekas T. A pitvarfibrilláció genetikája. In. Pitvarfibrilláció. A szívizomsejttől a betegágyig (szerk. Fazekas T, Bogáts G, Csanádi Z, **Jost N**, Lőrincz I). pp. 139-157, Medicina Kiadó, 2010.

5. **Jost N**, Kohajda Zs, Kristóf A, Kovács PP, Husty Z, Juhász V, Kiss L, Varró A, Virág L, Baczkó I. Atrial remodelling and novel pharmacological strategies for antiarrhythmic therapy in atrial fibrillation (*máshol még nem közölt saját eredeti adatokkal kiegészített review*). *Curr Med Chem*, 18:3675-3694, 2011.

Scimago: D1 Impact factor (2011): 4.859 Citációk: 8

6. Kohajda Z, Kristóf A, Corici C, Virág L, Muntean DM, Varró A, **Jost N**. Novel pharmacological strategies for antiarrhythmic therapy in atrial fibrillation. In Treatment Strategies in Cardiology (Ed. Laura Hajba; ebook), Vol 3, Issue 2, pp. 50-55, 2011, Publisher Cambridge Research Centre, London, UK.
7. **Jost N**, Muntean DM, Christ T. Cardiac Arrhythmias: Introduction, Electrophysiology of the Heart, Action Potential and Membrane Currents. in Pathophysiology and Pharmacotherapy of Cardiovascular Disease. Eds. Jagadeesh G, Balakumar P, Maungh-U K, pp 977-1002, 2015, ISBN: 978-3-319-15960-7, doi: 10.1007/978-3-319-15961-4_46.
8. Christ T, Pecha S, **Jost N**. Treatment of Atrial Fibrillation and Atrial Flutter. in Pathophysiology and Pharmacotherapy of Cardiovascular Disease. Eds. Jagadeesh G, Balakumar P, Maungh-U K, pp 977-1002, 2015, ISBN: 978-3-319-15960-7, doi: 10.1007/978-3-319-15961-4_50.
9. Varró A, Virág L, **Jost N**. A lassú késői egyenirányító káliumáram (I_{Ks}) és a repolarizációs rezerv kutatásnak két évtizede a Szegedi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiái Intézetben (review). Cardiol Hung, 47:G47-G55, 2017.
Scimago: - Impact factor (2017): - Citációk száma: -

A dolgozat alapját képező közlemények összesített impakt faktora 68.891 (az eredeti közleményeké 62.881, az összefoglalóké 6.01)
Ezekre a közleményekre történő összes független hivatkozás (SCI és Scopus): 814

Az értekezés témájához kapcsolódó (*de nem bemutatott*) eredeti és összefoglaló (review) közlemények (SCI szerinti impakt faktor és független idézetek számával megadva)

1. Baláti B, **Jost N**, Simon J, Varró A, Papp JGy. Analysis of the electrophysiological effects of ambasilide, a new antiarrhythmic agent, in canine isolated ventricular muscle and Purkinje fibres. Gen Pharmacol, 34:85-93, 2000.
Scimago: Q2 Impact factor (2000): 1.140 Citációk száma: 6
2. Takács J, **Jost N**, Lengyel C, Virág L, Nesic TM, Varró A, Papp JGy. Multiple amiodarone like cellular electrophysiological effects of azimilide in canine cardiac preparations. Eur J Pharmacol, 470:163-170, 2003.
Scimago: Q2 Impact factor (2003): 2.352 Citációk száma: 8
3. Varró A, Biliczki P, **Jost N**, Virág L, Hála O, Kovács P, Mátyus P Papp JGy. Theoretical possibilities for the development of novel antiarrhythmic drugs (review). Curr Med Chem, 11:1-11, 2004.
Scimago: D1 Impact factor (2004): 4.382 Citációk száma: 37
4. Bárándi L, Virág L, **Jost N**, Horváth Z, Koncz I, Papp R, Harmati G, Horváth B, Szentandrassy N, Bányász T, Magyar J, Zaza A, Varró A, Nánási PP. Reverse rate-dependent changes are determined by baseline action potential duration in mammalian and human ventricular preparations. Bas Res Cardiol, 105(3):315-23, 2010.
Scimago: D1 Impact factor (2010): 6.128 Citációk száma: 22
5. Szél T, Koncz I, **Jost N**, Baczkó I, Husti Z, Virág L, Bussek A, Wettwer E, Ravens U, Papp JGy, Varró A. Class I/B antiarrhythmic property of ranolazine, a novel antianginal agent, in dog and human cardiac preparations. Eur J Pharmacol, 668:419-426, 2011.
Scimago: Q1 Impact factor (2011): 2.516 Citációk száma: 19
6. Koncz I, Szél T, Bitay M, Cerbai E, Fülöp F, **Jost N**, Virág L, Orvos P, Tálosi L, Kristóf A, Baczkó I, Papp JGy, Varró A. Electrophysiological effects of ivabradine in dog and human cardiac preparations: potential antiarrhythmic actions. Eur J Pharmacol, 668:419-426, 2011.
Scimago: Q1 Impact factor (2011): 2.516 Citációk száma: 25

7. Pueyo E, Corrias A, Virág L, **Jost N**, Szél T, Varró A, Szentandrassy N, Nánási PP, Burrage K, Rodríguez B. A multiscale investigation of repolarization variability and its role in cardiac arrhythmogenesis. *Biophys J*, 101:2892-2902, 2011.
Scimago: D1 Impact factor (2011): 3.653 Citációk száma: 35
8. Lengyel Cs. Virág L, Kovács PP, Kristóf A, Pacher P, Kocsis E, Koltay ZM, Nánási PP, Tóth M, Kecskeméti V, Papp JGy, Varró A, **Jost N**. Role of slow delayed rectifier K⁺-current in QT prolongation in the alloxan-induced diabetic rabbit heart. *Acta Physiologica*, 192:359-368, 2008.
Scimago: Q2 Impact factor (2008): 2.455 Citációk száma: 27
9. Kristóf A, Husti Z, Koncz I, Kohajda Z, Szél T, Juhász V, Biliczki P, **Jost N**, Baczkó I, Papp JGy, Varró A, Virág L. Diclofenac prolongs repolarization in ventricular muscle with impaired repolarization reserve. *PLoS ONE* 7(12): e53255, 2012.
Scimago: D1 Impact factor (2012): 3.730 Citációk száma: 3
10. Ford J, Milnes J, Wettwer E, Christ T, Rogers M, Sutton K, Madge D, Virag L, **Jost N**, Horvath Z, Matschke K, Varro A, Ravens U. Human electrophysiological and pharmacological properties of XEN-D0101: A novel atrial Selective Kv1.5/I_{Kur} inhibitor. *J Cardiovasc Pharmacol*, 61:408-415, 2013.
Scimago: Q2 Impact factor (2013): 2.111 Citációk száma: 28
11. Muntean DM, Kohajda, Fazekas T, **Jost N**. Atrial remodeling in permanent atrial fibrillation: Mechanisms and pharmacological implications. *J Clin & Exp Cardiol*, 4:273, doi: 10.4172/2155-9880.1000273, 2013
Scimago: Q4 Impact factor (2013): - Citációk száma: 1
12. Muntean DM, Kiss L, **Jost N**, Baczkó I. ATP-sensitive potassium channel modulators and cardiac arrhythmias: an update (review). *Curr Pharm Design*, 21(8):1091-1102, 2015.
Scimago: Q1 Impact factor (2015): 3.052 Citációk száma: 2
13. Baczkó I, **Jost N**, Virág L, Bősze Zs, Varró A. Rabbit models as tools for preclinical cardiac electrophysiological safety testing: importance of repolarization reserve (review saját adatokkal). *Prog Biophys Mol Biol*, 121(2):157-168, 2016.
Scimago: Q1 Impact factor (2016): 3.227 Citációk száma: 6
14. Kohajda Zs. 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, 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, 2016.
Scimago: D1 Impact factor (2015): 2.806 Citációk száma: 7
15. Oravec K, Kormos A, Gruber A, Márton Z, Kohajda Z, Mirzaei L, **Jost N**, Levijoki J, Pollesello P, Koskelainen T, Otsomaa L, Tóth A, Papp JG, Nánási PP, Antoons G, Varró A, Acsai K, Nagy N. Inotropic effect of NCX inhibition depends on the relative activity of the reverse NCX assessed by a novel inhibitor ORM-10962 on canine ventricular myocytes. *Eur J Pharmacol*, 818:278-286, 2018.
Scimago: Q2 Impact factor (2017): 3.040 Citációk száma: -

Az értekezés témájához nem kapcsolódó eredeti és összefoglaló (review) közlemények, könyvfejezetek illetve monográfia szerkesztések (SCI szerinti impakt faktor és független idézetek számával megadva)

Eredeti és review közlemények

PhD értekezés megvédése előtt:

1. Kovács I, **Iost N**, Solymosi F. Thermal and photo-induced dissociation of (C₂H₅)₂Zn to yield C₂H₅ on the Pd(100) surface. J Chem Phys, 101:4236-4247, 1994.
Scimago: Q1 Impact factor (1994): 3.635 Citációk száma: 7
2. **Iost N**, Virág L, Opincariu M, Szécsi J, Varró A, Papp JGy. Delayed rectifier potassium current in undiseased human ventricular myocytes. Cardiovasc Res, 40:508-515, 1998.
Scimago: D1 Impact factor (1998): 2.996 Citációk száma: 58
3. Virág L, Fazekas T, **Iost N**, Varró A, Berlin KD, Scherlag B, Lazzara JR, Papp JGy. Effect of GLG-V-13, a class III antiarrhythmic agent, on potassium currents in rabbit ventricular myocytes. Life Sciences, 66: PL253-PL258, 2000.
Scimago: Q1 Impact factor (2000): 1.808 Citációk száma: 5
4. Varró A, Baláti B, **Iost N**, Takács J, Virág L, Lathrop DA, Lengyel C, Tálosi L, Papp JGy. The role of the delayed rectifier component I_{Ks} in dog ventricular muscle and Purkinje fibre repolarization. J Physiol (London), 523:67-81, 2000.
Scimago: D1 Impact factor (2000): 4.455 Citációk száma: 149

PhD értekezés megvédése után:

5. Magyar J, **Iost N**, Körtvély Á, Bányász T, Virág L, Szigligeti P, Varró A, Opincariu M, Szécsi J, Papp JG, Nánási PP. Effects of endothelin-1 on calcium and potassium currents in undiseased human ventricular myocytes. Pflügers Archiv, 441:144-149, 2000.
Scimago: Q1 Impact factor (2000): 2.203 Citációk száma: 51
6. Baczkó I, El-Reyani NE, Farkas A, Virág L, **Iost N**, Leprán I, Mátyus P, Varró A, Papp JGy. Antiarrhythmic and electrophysiological effects of GYKI-16638, a novel N-(phenoxyalkyl)-N-phenylalkylamine, in rabbits. Eur J Pharmacol, 404:181-190, 2000.
Scimago: Q2 Impact factor (2000): 2.236 Citációk száma: 5
7. Lengyel Cs, **Iost N**, Virág L, Varró A, Lathrop DA, Papp JGy. Pharmacological block of the slow component of the outward delayed rectifier current (I_{Ks}) fails to lengthen rabbit ventricular muscle QTc and action potential duration. Br J Pharmacol, 132:101-110, 2001.
Scimago: D1 Impact factor (2001): 3.502 Citációk száma: 75
8. Virág L, **Iost N**, Opincariu M, Szolnoky J, Szécsi J, Bogáts G, Szenohradszky P, Varró A, Papp JGy. The slow component of the delayed rectifier potassium current in undiseased human ventricular myocytes. Cardiovasc Res, 49:790-797, 2001.
Scimago: D1 Impact factor (2001): 4.552 Citációk száma: 75
9. Lengyel Cs, Horváth Cs, Biliczki P, Dézsi L, Németh M, **Iost N**, Virág L, Tálosi L, Papp JGy, Varró A. Effect of a neuroprotective drug, eliprodil on cardiac repolarization: importance of the decreased repolarisation reserve in the development of proarrhythmic risk. Br J Pharmacol, 143:152-158, 2004.
Scimago: D1 Impact factor (2004): 3.325 Citációk száma: 9
10. Biliczki P, Acsai K, Virág L, Tálosi L, **Iost N**, Biliczki A, Papp JGy, Varró A. Cellular electrophysiological effect of terikalant in the dog heart. Eur J Pharmacol, 510:161-166, 2005.
Scimago: Q2 Impact factor (2005): 2.477 Citációk száma: 3
11. Cotella D, **Iost N**, Darna M, Ravens U, Wettwer E. Silencing the cardiac potassium channel Kv4.3 by RNA interference in a CHO expression system. Biochem Biophys Res Commun, 330:555-560, 2005.
Scimago: Q1 Impact factor (2005): 3.00 Citációk száma: 2

12. Radicke S, Cotella D, Graf EM, Banse U, **Jost N**, Varro A, Tseng GN, Ravens U, Wettwer E. Functional modulation of the transient outward current I_{to} by KCNE β -subunits and regional distribution in human non-failing and failing hearts. *Cardiovasc Res*, 71:695-703, 2006.
Scimago: D1 Impact factor (2006): 5.826 Citációk száma: 90
13. Lengyel C, Virág L, Bíró T, **Jost N**, Magyar J, Biliczki P, Kocsis E, Skoumal R, Nánási PP, Tóth M, Kecske méti V, Papp JGy, Varró A. Diabetes mellitus attenuates the repolarization reserve in mammalian heart. *Cardiovasc Res*, 73:512-520, 2007.
Scimago: D1 Impact factor (2007): 6.127 Citációk száma: 48
14. Prorok J, Kovács PP, Kristóf AA, Nagy N, Tombácz D, Tóth JS, Ördög B, **Jost N**, Virág L, Papp JG, Varró A, Tóth A, Boldogkői Z. Herpesvirus – mediated delivery of a genetically encoded fluorescent Ca^{2+} sensor to canine cardiomyocytes. *J Biomed Biotechnol*, Vol. 2009, Article ID 361795, doi:10.1155/2009/361795, 2009.
Scimago: - Impact factor (2009): 1.750 Citációk száma: 3
15. Virág L, **Jost N**, Papp R, Koncz I, Kristóf A, Kohajda Z, Harmati G, Carbonell-Pascual B, Ferrero JM Jr, Papp JG, Nánási PP, Varró A. Analysis of the contribution of I_{to} to repolarization in canine ventricular myocardium. *Br J Pharmacol*, 164:93-105, 2011.
Scimago: D1 Impact factor (2011): 4.409 Citációk száma: 7
16. Mozsos I, Hancu M, **Jost N**. Isointegral body surface maps and left ventricular hypertrophy in post-infarction heart failure patients. *Acta Physiol Hung*, 99:18-24, 2012.
Scimago: - Impact factor (2012): 0.882 Citációk száma: -
17. Nagy N, Acsai K, Kormos A, Sebők Zs, Farkas AS, **Jost N**, Nánási PP, Papp JGy, Varró A, Tóth A. $[Ca^{2+}]_i$ -induced augmentation of the inward rectifier potassium current (I_{K1}) in canine and human ventricular myocardium. *Pflügers Archiv*, 465:1621-1635, 2013.
Scimago: Q1 Impact factor (2013): 3.073 Citációk száma: 15
18. Ördög B, Hategan L, Kovács M, Seprényi G, Kohajda Z, Nagy I, Hegedűs Z, Környei L, **Jost N**, Katona M, Szekeres M, Forster T, Papp JGy, Varró A, Sepp R. Identification and functional characterisation of a novel KCNJ2 mutation, VAL302DEL, causing Andersen-Tawill syndrome. *Can J Physiol Pharmacol*, 93:569-579, 2015.
Scimago: Q2 Impact factor (2015): 1.704 Citációk száma: 1
19. Nagy N, Szél T, **Jost N**, Tóth A, Papp JGy, Varró A. Novel experimental results in human cardiac electrophysiology: measurement of Purkinje fibre action potential from undiseased human heart. *Can J Physiol Pharmacol*, 93:803-810, 2015.
Scimago: Q2 Impact factor (2015): 1.704 Citációk száma: 2
20. Petruş A, Duicu OM, Sturza A, Noveanu L, Kiss L, Dănilă M, Baczkó I, Muntean DM, **Jost N**. Modulation of mitochondrial respiratory function and ROS production by novel benzopyran analogues. *Can J Physiol Pharmacol*, 98:811-818, 2015.
Scimago: Q2 Impact factor (2015): 1.704 Citációk száma: 3
21. Pueyo E, Dangerfield CE, Britton OJ, Virág L, Kistamás K, Szentandrassy N, **Jost N**, Varró A, Nánási PP, Burrage K, Rodríguez B. Experimentally-Based computational investigation into beat-to-beat variability in ventricular repolarization and its response to ionic current inhibition. *PLoS ONE* 11(3): e0151461, 2016.
Scimago: D1 Impact factor (2015): 2.806 Citációk száma: 7
22. Major P, Baczkó I, Hiripi L, Odening KE, Juhász V, Kohajda Z, Horváth A, Seprényi G, Kovács M, Virág L, **Jost N**, Prorok J, Ördög B, Doleschall Z, Nattel S, Varró A, Bószé Z. A novel transgenic rabbit model with reduced repolarization reserve: long QT syndrome caused by a dominant-negative mutation of KCNE1 gene. *Br J Pharmacol*, 173:2046-2061, 2016.
Scimago: D1 Impact factor (2015): 5.491 Citációk száma: 6

23. Petrus A, Sturza, Duicu OM, Utu D, Bedreag O, Kis L, Baczko I, Muntean DM, **Jost N**. Modulation of vascular reactivity by novel synthetic benzopyran analogues in rat aortas. *Revista Chimie (Bucharest)*, 67(5), 908-910, 2016.

Scimago: Q3

Impact factor (2016): 1.232

Citációk száma: 2

24. Horváth A, Lemoine MD, Löser A, Mannhardt I, Flenner F, Uzun AU, Neuber C, Breckwoldt K, Hansen H, Girdauskas E, Reichensperner H, Willems S, **Jost N**, Wettwer E, Eschenhagen T, Christ T. Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, inward rectifier K⁺ current, I_{K1}, I_{K,ACH}, engineered heart tissue, resting membrane potential, repolarization fraction, action potential duration. *Stem Cells Reports*, 10(3):822-833, 2018

Scimago: D1

Impact factor (2017): 6.537

Citációk száma: 0

25. Orvos P, Kohajda Z, Szlovák J, Gazdag P, Árpádfy-Lovas T, Tóth D, Geramipour A, Tálosi L, **Jost N**, Varró A, Virág L. Evaluation of possible proarrhythmic potency: comparison of the effect of dofetilide, cisapride, sotalol, terfenadine and verapamil on hERG and native I_{Kr} currents and on cardiac action potential. *Toxicol Sci*, doi: 10.1093/toxsci/kfy299, 2018.

Scimago: D1

Impact factor (2017): 4.181

Citációk száma: 0

Könyvfejezetek:

1. Varró A, P Biliczki, **Jost N**, Virág L, Hála O, Papp JGy. Pharmacology of potassium channel blockers. In. *Solvay Pharmaceutical Conferences. Atrial Fibrillation: New Therapeutic concepts*. Szerk. J.G. Papp, M. Straub, D. Ziegler, IOS Press, pp. 27-39, 2003, ISBN: 1 58603-387-5.

2. **Jost N**. Transmembrane ionic currents underlying cardiac action potential in mammalian hearts. In. *Advances in cardiomyocyte research*. Ed. Péter P. Nánási. Transworld Research Network, Tivandrum, Kerala, India, pp. 1-45, 2009, ISBN: 978-81-7895-418-9, 2009.

3. **Jost N**. The cardiac action potential and the underlying currents. In. *Principles and Experiments Guide in Electrophysiology and Molecular Biology*. Eds: N Jost and DM. Muntean. Editura Victor Babes, Timisora, 2014, pp. 9-26. ISBN: 978-963-306-302-6 (HU), 978-606-8456-33-1 (RO).

Monográfia szerkesztés:

1. Translational research in cardiovascular disease. A cross-border approach. Eds. Muntean D, Varró A, **Jost N**, Fira-Mladinescu O, Tóth A, Mozsos I, Virág L), 120 oldal, Editura Victor Babes, Timisoara, 2010. ISBN 978-606-92022-7-2 (HU) and ISBN 978-963-482-981-2 (RO).

2. Principles and experiments guide in electrophysiology and molecular biology. Eds. **Jost N**, Muntean DM). 184 oldal, Editura Victor Babes, Timisoara, 2014; ISBN: 978-963-306-302-6 (HU) and 978-606-8456-33-1 (RO).

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom középiskolai tanárainknak, akik szakmai tudása és emberi hozzáállása indított el ezen a pályán. Különösen osztályfőnökömnek és fizika tanáromnak, **Varga Annának**, illetve matematika tanáromnak, **Kiss Máriának**, kiktől nemcsak a tantárgyukkal kapcsolatos átfogó tudást, de életszemléletet, problémamegoldó gondolkodást és munkámmal szembeni igényességet is tanultam. Köszönöm kívülük valamennyi kiváló egyetemi oktatómnak, különösen diplomamunkám témavezetőinek (Prof. Solymosi Frigyes akadémikus úrnak és Dr. Kovács Imre tudományos munkatársnak), hogy a magas szintű ismeretek átadásán kívül hozzásegítettek az igényes tudományos gondolkodás és kísérletes munka alapjainak elsajátításához.

Hálás köszönettel tartozom **Prof. Papp Gyula akadémikus úrnak**, első munkahelyi vezetőmnek, hogy fizikus létemre lehetővé tette bekapcsolódásomat az orvostudományi kutatások sűrűjébe, megszerettette velem a kardiovaszkuláris élet és kórélettant, farmakológiát és folyamatosan segített tudományos előre haladásomban.

Köszönettel tartozom **Varró András professzor úrnak**, aki a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetbe történő első belépésem napjától a legjobb mentorom, és egyben barátom lett, és aki mellett magam is sikerült kutatónak és oktatónak válnom, és aki nélkül ezeket a sorokat sem írhatnám.

Különösen hálás vagyok **Dr. Virág László tanár úrnak**, akivel szintén az első naptól kezdve együtt dolgoztam, akitől sokat tanultam, majd akivel sikeresen vezettük/vezetjük az *In vitro* elektrofiziológiai laboratóriumot.

Őszintén hálás vagyok Ursula Ravens, Erich Wettwer, Dobromir Dobrev professzoroknak és Dr. Torsten Christ tanár úrnak, akik németországi tanulmányutam alatt voltak vezetőim, illetve kollegáim, és akik bizalmat szavaztak és adtak nekem, és akikkel számos értékes eredményt értünk el elsősorban a pitvarfibrilláció kutatási témában.

Köszönettel tartozom Dr. Lengyel Csaba, Dr. Leprán István, Dr. Tóth András és Dr. Végh Ágnes professzoroknak, Dr. Baczkó István és Dr. Pataricza János tanár uraknak, Dr. Ördög Balázsnak, Dr. Szűts Viktóriának, Dr. Prorok Jánosnak, Dr. Nagy Norbertnek, Dr. Orosz Andreának, Baczkó Gabriellának, Váradi Editnek, Molnárné Zsuzsának, Csomor Magdolnának, Girst Gábornak, Dobai Gábornak és valamennyi további olyan külön meg nem nevezett munkatársamnak, barátomnak támogatásukért vagy segítségükért, ami nagymértékben hozzájárult kutatómunkám eredményességéhez.

Külön szeretném megköszönni saját volt PhD hallgatóimnak Dr. Nagy Zsolt Ákosnak, Dr. Corici Klaudiának, Dr. Nagy (Kohajda) Zsófiának, Dr. Amir Geramipournak, Dr. Horváth Andrásnak és Kovács Péter Pálnak is akik szakmai elkötelezettsége és szorgalma nélkülözhetetlen volt az értekezésben foglalt jelentős mértékű eredmények eléréséhez.

Köszönetet mondok Fazekas Tamás professzor úrnak, akitől sokat tanultam a pitvarfibrilláció mechanizmusáról és klinikai-elméleti összefüggéseiről.

Köszönetet mondok Dr. Nánási Péter, Dr. Bányász Tamás és Dr. Magyar János professzoroknak, illetve Dr. Szentandrassy Norbert tanár úrnak és valamennyi debreceni partneremnek a sikeres kooperációkért és gyakorlati segítségükért a jelen értekezésben szereplő több kutatási témában is.

Szintén köszönetet mondok Fülöp Ferenc és Kiss Loránd professzoroknak és Dr. Szakonyi Zsolt tanár úrnak (GYTK Gyógyszerkémiai Intézet) a sikeres kooperációkért és gyakorlati segítségükért az NCX szerek kutatása témában.

Köszönettel tartozom szüleimnek, akiktől emberi tisztességet és őszinte szeretetet tanultam. Hálás vagyok feleségemnek, Krisztinának, és gyerekeimnek, Benedeknek és Zitának türelmükért és feltétlen támogatásukért, amivel sokat segítettek tudományos pályafutásomban.

Végül, szeretnék köszönetet mondani kutatásaim anyagi támogatóinak is:

- Először is köszönetemet fejezem ki a MTA Támogatott Kutatócsoport Programnak, amely 2000 óta folyamatosan biztosította és biztosítja stabil kutatói állásom.
- Kutatásaimat témavezetőként a következő projektek támogatták: OTKA: F-67879, K-82079, NN-109904; ETT: 483/2006, 306/2009; BAROSS NKTH Programok: REG_DA_KFI_09-2-2009-0115; HU-RO Programok: HURO-TWIN, HURO/1101/086/2.2.1, Romániai Felsőoktatási KFI Programok: PN-II-ID-PCE-2012-4-0512; Bolyai Ösztöndíj (2002, 2005 és 2008 időszakok) és a TÁMOP 4.2.4. A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program.
- Szenior közreműködő kutatóként több mint 20 olyan projektben vettem részt, amelyet az OTKA, ETT, NKTH Baross és Jedlik Programok, HURO Program, TAMOP, NKFIH-OTKA, GINOP és EFOP programok támogattak.