

**Jost Norbert László – MTA doktori értekezés**

**„Az antiaritmiás és proaritmiás hatások mechanizmusának celluláris szintű vizsgálata emlősszívekben”**

**Válasz Dr. Enyedi Péter Professor Úr opponensi véleményére**

Mindenekelőtt hálásan köszönöm Enyedi Péter Professor Úrnak, hogy elvállalta értekezésem bírálatát. Köszönöm az értekezésem gondos elolvasását és a bírálatban megfogalmazott formai megjegyzéseit, érdekes kérdéseit és gondos mindenre kiterjedő figyelmét. Köszönöm elismerő szavait a témaválasztást, illetve a dolgozat stílusát illetően. Köszönöm, hogy az elvégzett vizsgálatokat megalapozottnak, a megközelítést megfelelőnek, az alkalmazott módszereket korszerűnek értékelte, és, hogy mindezek alapján az értekezést és a téziseket elfogadásra méltónak találta. Az alábbiakban válaszolok opponensem észrevételeire és a feltett kérdésekre:

*1. A disszertáció szerkezetére (vonatkozó kritikai megjegyzés):*

Természetesen értem, és részben egyet is értek a Bírálnak azon kritikus észrevételével, hogy az értekezésben terjedelme miatt, ugyanazon témakörök egyes fejezetei (Bevezetés, Eredmények és Megbeszélés) igen távolra esnek egymástól, ezért az olvasó „gyakran kényszerül a fejezetek közötti lapozgatásra”. Hasonló kritikát fogalmazott meg Csernoch László professzor Úr is bírálatában. Az értekezés megírásakor magam is szembesültem azzal, hogy nehéz lesz megtalálnom az egyensúlyt az értekezés hossza és érthetősége között. Írás közben gondoltam a Bírálnál által megfogalmazott változatra, vagyis, hogy egyesítsem a négy témakört, de úgy éreztem, hogy ebben az esetben az értekezés elveszítené a szerkezeti egységét, és olyan lenne, mintha négy független mini-értekezést kötöttem volna egybe. Ezt viszont mindenképpen szerettem volna elkerülni. Mindenesetre az értekezés követhetőségének érdekében, az összefüggő témakörök Elméleti bevezetésénél, az Eredmények bemutatásánál, és végül a Megbeszélés fejezeteknél következetesen ugyanazokat a Témakör alcímeket alkalmaztam, ezért az olvasó mindig követni tudja, hogy melyek a tematikailag összefüggő részek, ami így segíthet az oda-vissza lapozgatásban.

*2. A. második témakör címének a megfogalmazása*

A Bírálnak nem tartja szerencsésnek az „A szívizom repolarizációjában résztvevő különböző  $K^+$ -csatornák kölcsönhatásának vizsgálata” témakör elnevezését, mert az értekezésben bemutatott eredmények alapján inkább valójában arról van szó, hogy a káliumáramok egymást kiegészítve, sőt helyenként egymást helyettesítve működnek. Úgy vélem, ez utóbbi jelenségre is lehet használni a „kálium áramok kölcsönhatásának” kifejezést, mert valójában azért az „egymás kiegészítése fogalom” is tulajdonképpen egy kölcsönhatás eredménye. Például az  $I_{Kr}$  áram gátlás esetében az  $I_{Ks}$  áram azért tudja átvenni az  $I_{Kr}$  áramnak a repolarizációban játszott szerepét, mert az  $I_{Kr}$  gátlás következtében megnyúlt repolarizáció eredményeképpen hosszabb ideig marad pozitív a plató, amely így hosszabb ideig aktiválja az  $I_{Ks}$  csatornákat. Ennek következtében viszont megnövekszik az  $I_{Ks}$  áram, amely így **már ki tudja védeni** a túlzott repolarizáció megnyúlást és a korai utódepolarizációk kialakulásának a veszélyét. Lehet, hogy ez konkrétan nem két áram közötti kölcsönhatás eredménye, de a szó tágabb értelmezésében én úgy véltem, hogy talán

nem helytelen vagy megtévesztő ez a megfogalmazás különösen egy olyan Témakör elnevezésében, ahol több egymástól független kísérletsorozatban mutattam be a különböző káliumáramok közötti kapcsolatrendszer vizsgálatát. Elismerem azonban, lehet, hogy a következő Témakör cím talán megfelelőbb lett volna: „A szívizom repolarizációjában részt vevő különböző  $K^+$ -csatornák kapcsolatrendszerének a vizsgálata”.

3. A jódtartalmú amiodaron elnevezés.

A Bírálóval egyet értek, az értekezésben a jelölt helyen (értekezés 46. oldala utolsó bekezdés) helyesen ezt kellett volna írnom.

„Az amiodaron tüdőfibrózist okozhat, illetve az amiodaron vegyületben lévő kettő jódatom miatt hipertireozist (Kennedy, 1990; Newman, 1998)”.

4. A reverz irányú NCX működése és intracelluláris  $[Na^+]_i$  szint függése

A Bíráló azt állítja, hogy: „az AP elején az NCX reverz irányú működéséhez az intracelluláris  $Na^+$ -szint megemelkedése is hozzájárul. Véleményem szerint a citoplazmatikus  $[Na^+]$ -t tekintetbe véve ennek ingadozása az AP során elhanyagolható mértékű”.

Egyetértek a Bírálóval, az említett bekezdés így megfogalmazva valóban hibás, a citoplazmatikus  $Na^+$ -szint *beat-to-beat* ingadozása elhanyagolható, így értelemeszerűen nem az indítja be a reverz NCX áramot. A reverz NCX aktiválódása az AP elején a membránpotenciál depolarizációjának (0 mV-feletti értékeken) a következménye. A  $Na^+$ -szint reverz módot befolyásoló hatása elsősorban szívelégtelenségben, vagy iszkémia-reperfüzióban lehet jelentős, ahol az intracelluláris  $Na^+$ -szint konstans módon 10 mM fölé emelkedik az irodalmi adatok szerint (Despa, 2013).

Ennek megfelelően az MTA doktori értekezés jelzett 143. oldalán az utolsó bekezdését a következőképpen módosítom (a módosított része aláhúzással és kiemeléssel jelzett):

„Az akciós potenciál időtartamának az elején, amikor a membránpotenciál meghaladja a 0 mV-ot, ugyanakkor az intracelluláris  $Ca^{2+}$ -szint még mindig alacsony értékű (nyugalmi szint közelében van), akkor az NCX mechanizmus fordított, *ún. reverz* módban működik (5. ábra), ami ezúttal egy nettó repolarizáló áramot vezet (Clark, 1996; Egger, 1999; Tóth, 2009). Fontos megjegyezni, hogy a reverz NCX áram is résztvehet az aritmogenézisben, mégpedig elsősorban az iszkémia/reperfüzió indukálta  $Ca^{2+}$ -túltelítődés talaján keletkezett ritmuszavarokban (Eigel, 2001; Baczkó, 2003 és 2004). Ennek következtében felvetődött, hogy az NCX reverz módjának a gátlása szintén jótékony hatású lehet (Baczkó, 2003; Oravecz, 2018).”

Despa S, Bers DM (2013).  $Na^+$  transport in the normal and failing heart - remember the balance. J Mol Cell Cardiol 61:2-10.

5.  $K_{2P}$  csatornák (TASK, TREK1 és TREK2) szívizomzatban.

**A kérdés:** Számos kísérleti adat támasztja alá, hogy a kardiomiocitákban különböző  $K_{2P}$  csatornák (TASK, TREK1, TREK2) expresszálódnak, és funkcionálisan is ki lehetett mutatni jelenlétüket. További figyelemreméltó adat, hogy pitvari és kamrai expressziójuk nem egyforma, ami a  $K_{ACh}$  csatornához hasonlóan célzott pitvari farmakológias

megközelítést is biztosíthat. Mi erről a véleménye, és van-e tudomása olyan adatról, hogy expressziójuk változna patológiás állapotokban?

A két pórus-formáló hurkot tartalmazó káliumcsatornák ( $K_{2P}$ ) közül jelenleg 15 humán gén ismert. A csatornákat a következő hat alcsaládra oszthatjuk: mechanikusan kapuzott (TREK), gyenge Kir (TWIK), sav-gátolt (TASK), lúg-aktivált (TALK),  $Ca^{2+}$ -aktivált (TRESK) és halotán-gátolt csatornák (THIK). A csatornák jellemzően az úgynevezett háttérkonduktancia kialakításában játszanak szerepet, amelynek révén stabilizálják a sejtek nyugalmi membránpotenciálját (Enyedi, 2010). A kétpórusú  $K^+$ -csatornák széleskörűen megtalálhatók számos emberi szervben, így a szívben is (Gurney, 2009). Jellemzően egér, vagy patkány élettani kísérletekben vizsgálták eddig a  $K_{2P}$  áramokat, de tény az, hogy széleskörűen expresszáltak az emberi szívben is. A kétpórusú  $K^+$ -csatornák tulajdonképpen egy számos tagból álló magas konduktanciájú káliumcsatorna család, amely jellemzően nem rendelkezik feszültségfüggő tulajdonságokkal és *outward* rektifikál (O’Connel, 2002). Két pórusformáló (alfa) alegységgel és négy transzmembrán szegmenssel rendelkeznek, amely két magas konduktanciájú pórust alkot (Gurney, 2009; Schmitt, 2014). A csatornák kinetikai tulajdonságai miatt, jelentősen hozzájárulnak a háttér  $K^+$  konduktanciához (O’Connel, 2002), ezért meghatározó szerepük van a maximális diasztolés potenciál, illetve a késői repolarizációs fázis kialakulásában. A csatornákat a feszülés (“*stretch*”), a pH, a hőmérséklet és számos szignalizációs elem is szabályozhatja (O’Connel, 2002). Mindez valóban azt jelentheti, hogy szerepük van a szív aritmogenezisében.

A **TWIK-1** (Tandem of pore domains in a weak inward rectifying  $K^+$  channel 1) csatornákat a KCNK1 gén kódolja, megtalálható a miokardiumban. Ezek a mechanikai *stretch*, intracelluláris savasodás és telítetlen zsírsavak aktiválta csatornák a miokardális repolarizációt és a membrán hiperpolarizációt segíti elő (Lesage, 1996; Schmitt, 2014; Christensen, 2016). Kimutatták, hogy bizonyos körülmények között (hipokalémiában és savas körülmények között) megváltozik a TWIK-1 csatornák ionszelektivitása, amelyek így nem  $K^+$ -ionokat, hanem  $Na^+$ -ionokat transzportál az extracelluláris térbe. Ez így hozzájárul a korábban hipokalémiás depolarizációs paradox kialakulásához, vagyis a TWIK1 csatornák járulhatnak hozzá a hipokalémiára jellemző antiaritmiás aktivitáshoz. Erről részletesebben beszámolok a Bíráló következő kérdésénél is (Ma, 2012; Chen, 2014).

A **TASK1** csatornákat (TWIK-related acid sensitive  $K^+$  channels-1,  $K_{2P3.1}$ ) a KCNK3 gén kódolja. A csatornák feszültségfüggetlenek és erősen függnek az extracelluláris pH értéktől. A csatornákat az A293 (AVE1231) vegyület gátolja (Gurney, 2009; Limberg, 2011; Schmidt, 2014). A TASK1 csatornák iszkémiában hozzájárulhatnak az APD rövidüléshez mivel a csatornát gátolja az extracelluláris acidózis (Limberg, 2011). A csatorna jelen van a pitvari szövetben is. Egy nem túl régi tanulmány kimutatta, hogy permanens pitvarfibrillációban a TASK1 csatorna felerősödik (*upreguláció*) valamint az APD lerövidül (Schmidt, 2015). Ezzel ellentétben szívelégtelenségben viszont a TASK-1 csatorna expressziója lecsökken (*downreguláció*), aminek a következtében az APD megnyúlik (Zafeiriou, 2017; Wiedmann, 2017; Schmidt, 2017a). Ennek megfelelően felmerült az a hipotézis, hogy a TASK1 csatornák gátlása hasznos támadáspont lehetne a permanens pitvarfibrilláció kezelésére. Több egészen friss tanulmány kimutatta, hogy a TASK1 csatorna farmakológiai gátlása [szívglükozidok mint a digoxin és digitoxin, az A293 (AVE1231) és a ranolazine szerekkel] vagy genetikai csendesítése (siRNS módszerrel) hatékony eljárásnak bizonyult a pitvarfibrilláció kivédésére (Schmidt, 2018 és 2019; Ratte, 2019; Wiedmann, 2019). Ezen felül humán pitvarban a TASK1 csatornák heterodiméert alkothatnak a TASK3 csatornával (KCNK9), amelyet a stresszfaktorok szabályozhatnak, így ennek szerepe lehet a permanens pitvarfibrilláció patogenezisében.

A **TREK1 és TREK2 csatornák** ("TWIK Related K<sup>+</sup>-channels" 1 and 2) egy másik kétporú káliumcsatorna entitás, amely szintén jelen van a human miokardiumban (Schmitt, 2014; Bodnar, 2015; Decher, 2017a). A TREK1 csatornák különösen fontosak, mert feszülés (SAC - „stretch” aktiválta kation csatornák; Decher, 2017a), hőmérséklet vagy telítetlen zsírsavak (arachidonsav aktiválta, I<sub>KAA</sub>) aktiválta outward K<sup>+</sup>-áramot vezetnek. A TREK1 mediálta SAC-áram rövidíti a repolarizációt, hiperpolarizálja a membránpotenciált, ezért szabályozza a spontán frekvenciát és az ingerület-vezetést (konduktancia). Kimutatták, hogy egy a csatorna ionszelektivitás szűróben történő mutáció megváltoztatja a TREK1 csatornát, amely így permeabilis lesz a Na<sup>+</sup>-ionra, és kamrai tachykardiát okoz (Decher, 2017b). A TREK1 csatornák expressziója lecsökken (downreguláció) pitvarfibrillációban és szívelégtelenségben (Schmidt, 2014a, 2014b, 2017b; Lugenbiel, 2017). A csatornák a c-Jun-N terminális kináz aktiválása révén hozzájárulnak a miokardiális fibrózishoz és diasztólés diszfunkcióhoz, ami felerősíti az aritmiák kialakulásának incidenciáját (Goonetilleke, 2012; Abraham, 2018).

- Abraham DM, Lee TE, Watson LJ, et al (2018). The two-pore domain potassium channel TREK-1 mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *J Clin Invest* 128:4843-4855.
- Bodnar M, Schlichthorl G, Daut J (2015). The potassium current carried by TREK-1 channels in rat cardiac ventricular muscle. *Pflugers Arch* 467:1069-1079.
- Chen H, Chatelain FC, Lesage F (2014). Altered and dynamic ion selectivity of K<sup>+</sup> channels in cell development and excitability. *Trends Pharmacol Sci* 35:461-469.
- Christensen AH, Chatelain FC, Huttner IG, et al (2016). The two-pore domain potassium channel, TWIK-1, has a role in the regulation of heart rate and atrial size. *J Mol Cell Cardiol* 97:24-35.
- Decher N, Ortiz-Bonnin B, Friedrich C, et al (2017b). Sodium permeable and "hypersensitive" TREK-1 channels cause ventricular tachycardia. *EMBO Mol Med* 9: 403-414.
- Decher N, Kiper AK, Rinne S (2017a). Stretch-activated potassium currents in the heart: Focus on TREK-1 and arrhythmias. *Prog Biophys Mol Biol* 130: 223-232.
- Decher N, Maier M, Dittrich W, et al (2001). Characterization of TASK-4, a novel member of the pH-sensitive, two-pore domain potassium channel family. *FEBS Lett* 492: 84-89, 2001.
- Enyedi P, Czirjak G (2015). Properties, regulation, pharmacology, and functions of the K(2)p channel, TREK. *Pflugers Arch* 467: 945-958.
- Enyedi P, Czirjak G (2010). Molecular background of leak K<sup>+</sup> currents: two-pore domain potassium channels. *Physiol Rev* 2010;90:559-605.
- Goonetilleke L, Quayle J (2012). TREK-1 K<sup>+</sup>-channels in the cardiovascular system: their significance and potential as a therapeutic target. *Cardiovasc Ther* 30: e23-29.
- Gurney A, Manoury B (2009). Two-pore potassium channels in the cardiovascular system. *Eur Biophys J* 38: 305-318.
- Lesage F, Guillemare E, Fink M, et al (1996). TWIK-1, a ubiquitous human weakly inward rectifying K<sup>+</sup> channel with a novel structure. *EMBO J* 15: 1004-1011.
- Limberg SH, Netter MF, Rolfes C, et al (2011). TASK-1 channels may modulate action potential duration of human atrial cardiomyocytes. *Cell Physiol Biochem* 28: 613-624.
- Lugenbiel P, Wenz F, Syren P, et al (2017). TREK-1 (K2P2.1) K<sup>+</sup> channels are suppressed in patients with atrial fibrillation and heart failure and provide therapeutic targets for rhythm control. *Basic Res Cardiol* 112: 8.
- Ma L, Zhang X, Zhou M, Chen H (2012). Acid-sensitive TWIK and TASK two-pore domain potassium channels change ion selectivity and become permeable to sodium in extracellular acidification. *J Biol Chem* 287: 37145-37153.
- O'Connell AD, Morton MJ, Hunter M (2002). Two-pore domain K<sup>+</sup> channels-molecular sensors. *Biochim Biophys Acta* 1566: 152-161.
- Ratte A, Wiedmann F, Kraft M, et al (2019). Antiarrhythmic Properties of Ranolazine: Inhibition of Atrial Fibrillation Associated TASK-1 Potassium Channels. *Front Pharmacol* 26;10:1367.

- Rinne S, Kiper AK, Schmidt C, et al (2017). Stress-Kinase Regulation of TASK-1 and TASK-3. *Cell Physiol Biochem* 44: 1024-1037.
- Rinne S, Kiper AK, Schlichthorl G, et al (2015). TASK-1 and TASK-3 may form heterodimers in human atrial cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 81:71-80.
- Schmidt C, Wiedmann F, Beyersdorf C, et al (2019). Genetic Ablation of TASK-1 (Tandem of P Domains in a Weak Inward Rectifying K<sup>+</sup> Channel-Related Acid-Sensitive K<sup>+</sup> Channel-1) (K2P3.1) K<sup>+</sup> channels suppresses atrial fibrillation and prevents electrical remodeling. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 12(9):e007465.
- Schmidt C, Wiedmann F, Gaubatz AR, et al (2018). New targets for old drugs: Cardiac glycosides inhibit atrial-specific K2P3.1 (TASK-1) channels. *J Pharmacol Exp Ther* 365(3):614-623.
- Schmidt C, Wiedmann F, Zhou XB, et al (2017b). Inverse remodelling of K2P3.1 K<sup>+</sup> channel expression and action potential duration in left ventricular dysfunction and atrial fibrillation: implications for patient-specific antiarrhythmic drug therapy. *Eur Heart J* 38: 1764-1774.
- Schmidt C, Wiedmann F, Kallenberger SM, et al (2017). Stretch-activated two-pore-domain (K<sub>2P</sub>) potassium channels in the heart: Focus on atrial fibrillation and heart failure. *Prog Biophys Mol Biol*. 130(Pt B):233-243.
- Schmidt C, Wiedmann F, Voigt N, et al (2015). Upregulation of K(2P)3.1 K<sup>+</sup> current causes action potential shortening in patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation* 132: 82-92.
- Schmidt C, Wiedmann F, Schweizer PA (2014a). Inhibition of cardiac two-pore-domain K<sup>+</sup> (K<sub>2P</sub>) channels-an emerging antiarrhythmic concept. *Eur J Pharmacol* 738: 250-255.
- Schmidt C, Wiedmann F, Tristram F (2014b). Cardiac expression and atrial fibrillation-associated remodeling of K(2)p2.1 (TREK-1) K<sup>+</sup> channels in a porcine model. *Life Sci* 97: 107-115.
- Schmitt N, Grunnet M, Olesen SP (2014). Cardiac potassium channel subtypes: new roles in repolarization and arrhythmia. *Physiol Rev* 94: 609-653.
- Wiedmann F, Kiper AK, Bedoya M et al (2019). Identification of the A293 (AVE1231) binding site in the cardiac two-pore-domain potassium channel TASK-1: a common low affinity antiarrhythmic drug binding site. *Cell Physiol Biochem* 52(5):1223-1235.
- Wiedmann F, Schulte JS, Gomes B et al (2017). Atrial fibrillation and heart failure-associated remodeling of two-pore-domain potassium (K<sub>2P</sub>) channels in murine disease models: focus on TASK-1. *Basic Res Cardiol* 113: 27.
- Zafeiriou MP, Ehrlich JR, Tochtermann U, et al (2017). Stretch-activated two-pore-domain (K<sub>2P</sub>) potassium channels in the heart: Focus on atrial fibrillation and heart failure. *Prog Biophys Mol Biol* 130: 233-243.

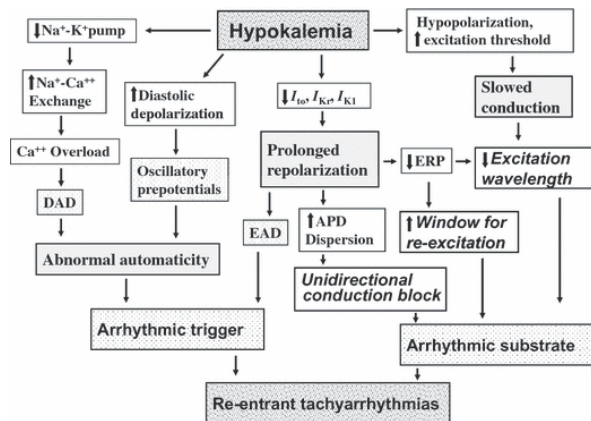
## 6. Hipokalémia

**A kérdés:** A hipokalémia több káliumcsatornát is gátol, ezzel összhangban bizonyos aritmiák veszélyét fokozza. Mely csatornákon érvényesül legkifejezettebben ez a hatás, ill. a szívnek mely elemei érintettek elsősorban. Mivel hipokalémia különböző gyógyszerek mellékhatásaként, fokozott mineralokortikoid hatásra, de alkalózisban is létrejöhet, jelenti-e azt, hogy a hipokalémia mintegy csökkenti, esetleg kimeríti a szív repolarizációs rezerv kapacitását? Tekintettel arra, hogy a III típusú antiaritmiás szerek is ennek a kapacitásnak egyes elemeit célozzák, a hipokalémia lehetősége/veszélye mennyire jelenti alkalmazásuk ellenjavallatát?

A Bíráló által feltett kérdés egy nagyon fontos már több évtizede ismert jelenség, amely ugyanakkor egy paradoxonra is utal. Nevezetesen, amennyiben az szérum K<sup>+</sup>-szint a normál (élettani) érték alá csökken amely kb. 4-5 mM, a szívizomsejtek nagy része (a vezetőképességi rendszerhez tartó Purkinje rostokat is beleértve) paradox módon depolarizál (Gennari, 1998). Ez megbontja a sejtek közötti elektromos szinkronizált kapcsolatot, és megemeli a veszélyes szívritmuszavarok kockázatát. Ennek a depolarizációnak a mechanizmusa hosszú ideig nem volt tisztázott. A hipokalémia esetében (különösen a súlyos 2 mM [K<sup>+</sup>]<sub>e</sub> esetében) ugyanis a membránpotenciálnak inkább tovább kellene csökkennie. A nyugalmi állapothoz közeli membránpotenciál értékek ugyanis még jobban felerősítik a K<sup>+</sup>-

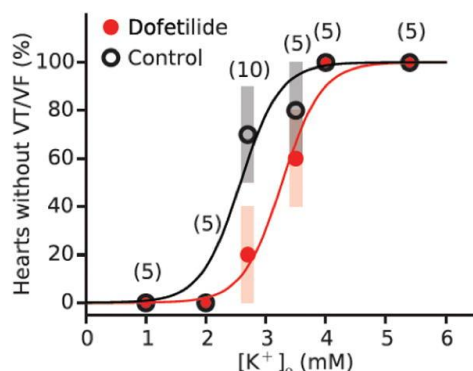
ionok membrán-permeabilitását, illetve a Nernst és Goldman-Hodgkin Katz egyenletek alapján történő számolások is negatívabb membránpotenciált eredményeznek (GHK-Goldman-Hodgkin-Katz Equation Calculator, 2005).

A hipokalemia okozta aritmiák megjelenése egy komplex több tényezős jelenség eredménye. A hipokalemia azért idézhet elő aritmiákat, mert a sejtek depolarizációja fokozza a szív automáciáját (trigger mechanizmus; **1. ábra**, balról a második folyamatábra), amely a szív normál pacemaker funkciójától független ektópiás ütésekkel idéz elő. A depolarizált membránpotenciál ugyanakkor részben inaktíválja a gyors inward  $\text{Na}^+$ -csatornákat, és ezáltal csökkenti az impulzus terjedését is (aritmia szubsztrátum; lásd **1. ábra** jobb oldalán a „*slowed conduction*” nevű folyamatábra). Korábban kimutatták, hogy a hospitalizált betegek között a csökkent szérumszintű  $\text{K}^+$ -szint 10-szeresére növelte a hirtelen szívhalál (SCD) kockázatát, a normál  $\text{K}^+$ -értékkel rendelkezőkkel összevetve (Kjeldsen, 2010).



**1. ábra.** A hipokalemia elektrofiziológiai hatásainak és a kamrai aritmogenitás mechanizmusának kapcsolata (Osadchii, 2010 alapján).

A másik ok, amely miatt hipokalemiában jelentősen megemelkedik a ritmuszavarok kockázata, az, hogy hipokalemiában csökkennek a fő repolarizáló kálium-ionáramok amplitúdói, amelyek így szintén depolarizálják a membránpotenciált. Kimutatták, hogy hipokalemiában csökken a tranziens kifelé haladó ( $I_{to}$ ), a késői egyenirányító káliumáram gyors komponense ( $I_{Kr}$ ), illetve a befelé haladó egyenirányító káliumáramok ( $I_{K1}$ ) nagysága (Scamps, 1989; Shimoni, 1992; Firek, 1995; Yang, 1997). Mindez azt jelenti, hogy a négy legfontosabb transzmembrán ionáram közül legalább három ionáram mennyisége csökken, vagyis a **hipokalemia jelentősen csökkenti a szív repolarizációs tartalékát**, amelynek következtében **jelentősen megemelkedik a korai utódepolarizációk (EAD, trigger) kialakulásának kockázata, illetve megnöveli a repolarizáció diszperzióját is (szubsztrátum)** (**1. ábra**, közepén látható ennek a folyamatábrája). Hipokalemiában a káliumáramok gátlása -például az  $I_{Kr}$  gátló III-as osztályú antiaritmiás szerek alkalmazása-értelemszerűen jelentős további (additív) APD és repolarizáció megnyúlást okoz (még jobban lecsökkenti a repolarizációs tartalékot), vagyis az EAD-ok (torzadók) megjelenésének a kockázata még inkább fokozódik. A **2. ábrán** látható, hogy a dofetilid (ismert III-as osztályú antiaritmiás szer) indukálta VT/VF incidencia szignifikánsan megemelkedett, amikor az extracelluláris káliumszint  $3 \text{ mM } [\text{K}^+]_e$  alatti értékekre csökkent (Pezhouman, 2015).



**2. ábra.** Hipokalemia indukálta VT/VF  $[\text{K}^+]_e$  függése izolált nyúlszív kísérletekben dofetilid jelenlétében, illetve hiányában. A diagramon látható hogy kontroll kísérletekben (dofetilid nélkül; fekete körök) alacsony 2.0 és 1.0 mM  $[\text{K}^+]_e$  esetében a VT/VF incidencia jelentősen megemelkedett (100% értékben) A dofetilid (1  $\mu\text{M}/\text{l}$ , piros körök) tovább emelte a VT/VF események incidenciáját és eltolta jobbra a dózis-hatás görbét (Pezhouman, 2015).

A hipokalémia nemcsak az előbb említett három káliumáramot blokkolja, hanem jelentős mértékben gátolja a  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pumpaáramot is (Han, 2009). Közismert, hogy a  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pumpa gátlása egy aritmogén folyamatot indít be. A pumpagátlása miatt megemelkedik az intracelluláris  $\text{Na}^+$ -szint, amely felerősíti a *reverz* nátrium-kalcium cseremechanizmust (NCX áramot) (**1. ábra**, bal oldali folyamatábra). A *reverz* NCX áram felerősödése miatt  $\text{Ca}^{2+}$ -tútelődés („*overload*”) történik, ami viszont késői utódepolarizációt (DAD-okat) és aritmiákat okoz.

Összeségében elmondható, hogy a hipokalémia egy rendellenes elektrofiziológiai állapot, amely aritmogén lehet, ugyanis felerősítheti mindhárom ismert aritmia trigger (EAD, DAD, spontán fázis 4 depolarizáció) előfordulását, ugyanakkor szélesíti a repolarizáció diszperzióját is (aritmia szubsztrátum). A hipokalémia csökkenti a repolarizációs tartalékot, ezért a tiszta III-as osztályú antiaritmiás szerek hipokalémiában történő alkalmazása ellenjavalt mert növelheti az életet veszélyeztető aritmiák kialakulását.

- Firek L, Giles WR (1995). Outward currents underlying repolarization in human atrial myocytes. *Cardiovasc Res* 30:31–38.
- Gennari FJ (1998). Hypokalemia. *N Engl J Med* 339(7):451-458.
- GHK-Goldman-Hodgkin-Katz Equation Calculator (2005). [https://www.physiologyweb.com/calculators/ghk\\_equation\\_calculator.html](https://www.physiologyweb.com/calculators/ghk_equation_calculator.html)
- Han F, Tucker AL, Lingrel JB, et al (2009). Extracellular potassium dependence of the  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase in cardiac myocytes: isoform specificity and effect of phospholemman. *Am J Physiol Cell Physiol* 297(3):C699-70.
- Kjeldsen K (2010). Hypokalemia and sudden cardiac death. *Exp Clin Cardiol* 15:e96-99.
- Osadchii OE (2010). Mechanisms of hypokalemia-induced ventricular arrhythmogenicity. *Fundam Clin Pharmacol* 24(5):547-559.
- Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK (1992). Role of external  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{K}^+$  in gating of cardiac delayed rectifier  $\text{K}^+$  currents. *Pflugers Arch* 420:180-186.
- Scamps F, Carmeliet E (1989). Delayed  $\text{K}^+$  current and external  $\text{K}^+$  in single cardiac Purkinje cells. *Am J Physiol* 257: C1086-1092.
- Shimoni Y, Clark RB, Giles WR (1992). Role of an inwardly rectifying potassium current in rabbit ventricular action potential. *J Physiol* 448:709–727.
- Pezhouman A, Singh N, Song Z et al (2015). Molecular basis of hypokalemia-induced ventricular fibrillation. *Circulation* 132(16):1528-1537.
- Yang T, Snyders DJ, Roden DM (1997). Rapid inactivation determines the rectification and  $[\text{K}^+]_o$  dependence of the rapid component of the delayed rectifier  $\text{K}^+$  current in cardiac cells. *Circ Res* 80:782–789.

## 7. A kalcium háztartás és az NCX gátlás

**A kérdés:** Kalciummal való tútelődés esetén az NCX gátlása csökkenti az EAD és különösen a DAD alapján kialakuló ritmuszavarok kialakulását. Nem súlyosbítja-e azonban a kalcium eltávolítás gátlása, a szívizom kalcium háztartásának egyébként is fennálló zavarát?

Az NCX gátlással kapcsolatban fontos megjegyezni, hogy az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  homeosztázisra gyakorolt hatása jelentősen függ attól, hogy a  $\text{Ca}^{2+}$ -tútelődés milyen mechanizmus révén jött létre. Alapvetően, az ORM-10103 egyenlő mértékben gátolja az NCX *reverz* illetve *forward* módját. Azonban, különböző kóros állapotokban, az ionhomeosztázis többféleképpen változhat, amely vagy a *reverz* vagy a *forward* módot helyezi előtérbe, így, a gátlás is "aszimmetrikussá" válhat. Amennyiben a  $\text{Ca}^{2+}$ -tútelődés az intracelluláris  $\text{Na}^+$  - felhalmozódása révén jött létre (pl.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pumpa gátlás,  $I_{\text{NaL}}$  fokozódás), a *reverz* NCX jelentősen fokozódik. Ebben az esetben az NCX gátlása az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -szintet

csökkenti amely elsősorban a *reverz* NCX túlsúlyának a visszaszorítása miatt jön létre (Nagy, 2014, Oravecz, 2018). Azonban, ha a  $\text{Ca}^{2+}$ -túltöltődés a  $[\text{Na}^+]_i$ -szint fokozása nélkül jön létre (pl.  $\beta$ -adrenerg stimuláció esetében) akkor a  $\text{Ca}^{2+}$ -szint emelkedése nagyobb *forward* módot eredményez, és az NCX gátlás szintén aszimmetrikussá válik, de ez elsősorban a *forward* módon fog érvényesülni (Kohajda, 2016). Habár az NCX-mediált kóros depolarizációkat (DAD, EAD) csökkentheti, ennek az ára valójában a további  $\text{Ca}^{2+}$ -emelkedés, amely az SR túltöltődéséhez, és a mitokondriumok fokozott  $\text{Ca}^{2+}$ -felvételéhez és pusztulásához vezethet. Ez utóbbi esetben, az NCX gátlás valóban proaritmiás hatással rendelkezhet. Az, hogy mennyiben antiaritmiás vagy proaritmiás az NCX gátlás ez utóbbi esetben, az aktuális  $\text{Ca}^{2+}$ -szinteknek a függvénye. Amennyiben a belső  $\text{Ca}^{2+}$ -szint nem túlságosan magas, az NCX-indukált további  $\text{Ca}^{2+}$ -emelkedést a sejt még tolerálhatja, és így eredményesen csökkentheti a kóros depolarizációkat, természetesen, pozitív inotrópia kialakulása mellett.

Fentieket így tudnám röviden összegezni: alapvetően mind a *reverz* mind a *forward* módon érvényesülő hatás egyaránt antiaritmiás lehet, de proaritmiás kockázattal elsősorban a *forward* NCX gátlás rendelkezik.

Kohajda Z, Farkas-Morvay N, Jost N, et al (2016). 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):e016604.

Nagy N, Kormos A, Kohajda Z, et al (2014). Selective  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger inhibition prevents  $\text{Ca}^{2+}$ -overload-induced triggered arrhythmias. Br J Pharmacol 171(24):5665-5681.

Oravecz K, Kormos A, Gruber A, et al (2018). 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.

## 8. A tedisamil és a GYKI-16638 további fejlesztései

A kérdés: Az első tématerület anyagát (a különböző gyógyszerjelöltek karakterizálását) bemutató közlemények a 2000-es évek elején megjelent közlemények tartalmazzák. Közülük a dronedaront a Sanofi Aventis gyógyszerként törzskönyvezték 2009-ben. Mit lehet tudni a másik két ígéretesnek tartott szer sorsáról, beváltották-e a hozzájuk fűzött reményeket?

A GYKI-16638 a budapesti székhelyű Gyógyszerkutató Intézet (GYOKI) munkatársai által kifejlesztett vegyület. A szintézisért és a fejlesztésért elsősorban Mátyus Péter professzor úr volt a felelős. Sajnos a gyógyszerjelölt fejlesztése egybeesett a rendszerváltással és a Gyógyszerkutató Intézet 1996-ban bekövetkező talán nem kellően átgondolt és végrehajtott privatizálásával is (Simai, 2001), amikor pénzügyi és nem szakmai befektető csoport vette meg az időközben Kft-vé alakult GYOKI-t. A tulajdonosváltás következtében leépültek az intézet saját kutatóképes egységei (ingatlan és humánerőforrás állomány egyaránt). A GYOKI új tulajdonosa a létező jelentős szabadalmaztatott vegyület állomány további sorsát elsősorban értékesítéssel, vagy financiálisan is befektető ipari partner bevonásával képzelte el. Ismeretem szerint a GYKI-16638 vegyületre hosszú ideig kerestek olyan ipari partnert, aki vagy megvásárolja, vagy ko-operációban folytatja a vegyület klinikai vizsgálatait, de mivel a vegyületet többszöri meghirdetés ellenére senki sem vette meg, végül elveszett a GYOKI süllyesztőjében.

A tedisamil a Solvay Pharma/Kali Chemie (Németország) által kifejlesztett vegyület. A tedisamilt a dronedaron logikájához hasonlóan a Solvay Pharma a pitvarfibrilláció (AF) és pitvari flutter (atrial flutter, AFlu) kezelésére használatos gyógyszerként próbálták bevezetni a gyógyszerpiacra.



Ennek megfelelően két kettes fázisú, majd ezután három hármas fázisú klinikai trial-t végeztek. Ezen vizsgálatok eredményeképpen 2006-ban sikeresen kérelmezték a tedisamil Pulzium™ néven történő engedélyezését több európai országban (Solvay Pharma, 2008). Ugyancsak 2006-ban kérelmezte a Solvay Pharma az Amerikai Gyógyszerhatóságtól (FDA) a tedisamil engedélyezését. A gyógyszert 20 mg/10 ml injekció formájában szerették volna bevezetni, és a kért indikáció a „Korai (3 óra-45 nap) pitvarfibrilláció vagy pitvari flutter szinusz ritmusba történő gyors konverziója” lett volna (Solvay Pharma, 2007).

A benyújtott dokumentációt a FDA Kardiovaszkuláris és Vese Betegségek elleni Gyógyszerek Tanácsadó Testülete megvizsgálta és egyhangúlag elutasította 2007 decemberében. A tanácsadó testület egyik tagja az ülésen kiemelte, hogy a vizsgálatok alapján elmondható, hogy a tedisamil rendelkezik antiaritmiás potenciállal, de a bemutatott vizsgálati eredmények nem győzték meg a testületet a gyógyszer biztonságosságáról (proaritmiás mellékhatások) (Drugs.com, 2007; FDA panel votes, 2008). Összefoglalva, a tedisamil Pulzium™ néven létező gyógyszer Európában a korai AF és AFlu kezelésére. FDA engedély hiányában nyilván használatára nem rendelkeznek a nagy nemzetközi társaságok AF/AFlu terápiás ajánlásaival (*guideline*), ezért forgalma vélhetően erősen visszafogott.

Drugs.com (2007). <https://www.drugs.com/history/pulzium.html>

FDA panel votes (2008). <https://www.healio.com/cardiology/arrhythmia-disorders/news/print/cardiology-today/%7B5c82a942-b2c1-4215-a91d-18864e8c86b5%7D/fda-panel-votes-against-recommendation-for-tedisamil>

Simai A (2001). A Gyógyszerkutató Intézet története és főbb eredményei. Acta Pharmaceutica Hung 7:7-12.

Solvay Pharma (2008). [https://www.solvay.com/sites/g/files/srpend221/files/tridion/documents/20080930\\_Pharma.pdf](https://www.solvay.com/sites/g/files/srpend221/files/tridion/documents/20080930_Pharma.pdf) (71. oldal)

Solvay Pharma (2007). (<https://wayback.archive-it.org/7993/20170405050441/https://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/07/briefing/2007-4327b2-01-solvay-background.pdf>).

Végezetül még egyszer szeretném megköszönni Enyedi Péter Professzor Úrnak igényes és alapos bírálatát. Köszönöm, hogy értekezésemet értékesnek, benne bemutatott eredményeinket megfigyeléseinket, következtetéseinket mértéktartónak ítélte, továbbá azt, hogy az értekezést és a téziseket elfogadásra méltónak találta. Köszönöm, hogy az értekezés nyilvános vitára bocsátását, illetve sikeres védés esetén a doktori cím odaítélését támogatja, és kérem kérdéseire adott válaszaim elfogadását.

Szeged, 2020. május 7.

Dr. Jost Norbert László