

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

Válasz Szokodi István Professor Úr opponensi véleményére

Köszönöm Dr. Szokodi István Professor Úrnak, hogy értekezésem bírálatát elvállalta és elvégezte. Köszönöm munkásságom méltatását továbbá a dolgozatommal kapcsolatban megfogalmazott elismerő szavakat és annak összességében kedvező megítélését, a gondolkodásra ösztönző észrevételeket, kérdéseket. Az opponensi véleményben megfogalmazott kritikai észrevételekre, kérdésekre azok elhangzásának sorrendjében válaszolok:

*1. kérdés. Egyes emberi és kutya eredetű mintákon végzett kísérletek során a multicelluláris preparátumok a jobb kamrából, az izolált szívizomsejtek a bal kamrából származtak. Elektrofiziológiai szempontból milyen fokú az eltérés a két kamra szívizomsejtjei között?*

Az alkalmazott kísérletes technikák teszik szükségyszerűvé, hogy a sejtek izolálása a bal kamrából, a multicelluláris minták izolálása a jobb kamrából történjék; a megosztásnak alapvetően praktikus okai vannak –ily módon ugyanis egyetlen szívből mindkét típusú preparátum kinyerhető, s ezáltal jelentős költségcsökkentés érhető el. A humán szívekből származó minták esetében ennek ezen kívül praktikus oka is, volt, ugyanis a humán egészséges donorszívekhez történő hozzáférés igen limitált.

Természetesen az eredmények összehasonlításának alapvető feltétele, hogy a vizsgált ionáramok nagysága és eloszlása, illetve a repolarizációt befolyásoló elektrofiziológiai paraméterei vonatkozásában ne legyen a két szívfél sejtjei között lényeges kvantitatív eltérés. Ezt a kérdést az értekezésemben én nem diszkutáltam, de természetesen az irodalomban ez kellően vizsgált téma. Az irodalmat áttekintve, illetve saját kutatási eredményeink alapján is ismert, hogy a repolarizációt meghatározó káliumáramok között létezik jobb illetve balkamrai régiós különbség. Így Volders és *mtsai* (Circulation, 1999) kutya kamrai M szívizomsejttípusban (midmiokardiális) kimutatta, hogy az  $I_{to}$  és az  $I_{Ks}$  áramok jelentősen nagyobbak a jobb kamrai szívizomsejtekben mint a bal kamrából származó kamrai miocitákban. Ezzel ellentétben a membránpotenciált meghatározó  $I_{K1}$  és a késői kamrai repolarizációt meghatározó fő káliumáram az  $I_{Kr}$  nem volt eltérő a jobb illetve bal kamrai M sejtekben. A jobb kamrai M sejtekből származó akciós potenciálok jelformája is eltérő, így a fázis 1 repolarizációt meghatározó „notch” kisebb bal kamrában (a kisebb  $I_{to}$  áram miatt), illetve az  $APD_{95}$  hosszabb bal kamrában, mint a jobb kamrában. Ez az értekezésben is bemutatott elméletek alapján úgy magyarázható, hogy a bal kamrai kisebb  $I_{Ks}$  áram nem tudja kivédeni a repolarizáció megnyúlást, ezért hosszabb a bal kamrai  $APD_{95}$  mint a jobb kamrai. Irodalmi adatok azt jelzik egyébként, hogy a repolarizáció diszperzióját jobban befolyásolják a transzmurális (epi-, mid- és endokardiális) különbségek, mint a regionális (jobb vs balkamrai) különbségek (Baláti, 1999). A kiváló elektromos csatolások miatt a repolarizáció diszperziója egyébként sem jelentős egészséges (intakt) szíven, ezért ott nem is jellemző a korai utódepolarizációs potenciálok (EAD-ok) kialakulása. Patológiás körülmények között azonban ezek a különbségek felerősödhetnek, ugyanis számos ionáram működése megváltozik (betegség indukálta remodelling), így például az  $I_{to}$  és  $I_{Kr}$  áramok lecsökkennek (downreguláció; Beuckelmann, 1993), az  $I_{K1}$  áram viszont felerősödik (upreguláció; Szűts,

2013). Mindez azt jelentheti, hogy a kamrai illetve Purkinje rost akciós potenciálok hossza eltérő módon változhat meg, másrészt a sejt-sejt kapcsolatok is megváltoznak („*uncoupling*”), vagyis a repolarizáció diszperziója megnövekszik (aritmia szubsztrátum) ezért ez együttesen komoly kamrai szívizom aritmiák forrása lehet.

Végezetül ki szeretném még emelni azt, hogy az értekezésben bemutatott adatok értékét ezek az észrevételek kevésbé érintik, ugyanis több olyan vizsgálatot végeztünk, amelyek teljes (intakt) szíven (*in vivo* nyúl és kutya adatok, ill. *ex vivo* Langendorff-perfundált nyúl szív vizsgálatok) is megerősítették a repolarizációs tartalékról felvetett hipotéziseket (Lengyel, 2007a, 2007b; Lengyel 2008).

Baláti B, Varró A, Papp JG (1999). Pharmacological modification of the dispersion of repolarization in the heart: importance of the M cells. *Cardiovasc Drugs Ther* 13(6):491-505.

Beuckelmann DJ, Näbauer M, Erdmann E (1993). Alterations of  $K^+$  currents in isolated human ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *Circ Res* 73(2):379-385.

Lengyel C, Virág L, Kovács PP, Kristóf A, Pacher P, Kocsis E, et al (2008). Role of slow delayed rectifier  $K^+$ -current in QT prolongation in the alloxan-induced diabetic rabbit heart. *Acta Physiol (Oxf)* 192(3):359-356.

Lengyel C, Varró A, Tábori K, Papp JG, Baczkó I (2007a). Combined pharmacological block of  $I_{Kr}$  and  $I_{Ks}$  increases short-term QT interval variability and provokes torsades de pointes. *Br J Pharmacol* 151(7):941-951.

Lengyel C, Virág L, Bíró T, Jost N, Magyar J, Biliczki P, et al (2007b). Diabetes mellitus attenuates the repolarization reserve in mammalian heart. *Cardiovasc Res.* 73(3):512-520.

Szűts V, Ménesi D, Varga-Orvos Z, et al (2013). Altered expression of genes for  $K_{ir}$  ion channels in dilated cardiomyopathy. *Can J Physiol Pharmacol* 91(8):648-656.

Volders PG, Sipido KR, Carmeliet E, et al (1999). Repolarizing  $K^+$  currents  $I_{to1}$  and  $I_{Ks}$  are larger in right than left canine ventricular midmyocardium. *Circulation* 99(2):206-210.

**2. kérdés.** *A krónikusan pitvarfibrilláló betegek pitvari mintáin, illetve a gyors pitvari ingerléssel kiváltott pitvarfibrilláció kutya modelljében kimutatható volt az elektromos remodelláció jelensége. A szerkezeti átépülés jegyei is megjelentek? A Jelölt által bemutatott elektrofiziológiai változások mennyiben módosulnak strukturális eltérések hiányában, illetve jelenlétében?*

A krónikusan pitvarfibrilláló (cAF) páciensekből származó minták (összesen 33 beteg) kivétel nélkül olyan betegből származnak, akiknél a pitvarfibrilláció (AF) már egyértelműen permanensnek tekinthető (cAF > 6 hónap), ami azt jelentheti, hogy ez esetben a strukturális remodelling már kialakulhatott. A dolgozat írásának idejében, még nem volt széleskörűen elterjedt a jelenleg használt három kategóriára történő felosztás (paroxizmális, perzisztens, illetve permanens), hanem csak paroxizmális, illetve krónikus pitvarfibrillációról (cAF) beszéltek. Sajnos a műtéti nyeselek jellemzően túl kicsik voltak (maximum 0.2-0.3 cm<sup>3</sup>, és ezt is kettéválasztottuk, azért, hogy ugyanazon mintából akciós potenciál mérés is történjen standard mikroelektróda technikával, illetve sejtzoláció is készült patch-clamp technika kísérletek számára. **Mindez azt jelenti, hogy nem tudjuk biztosan, de az irodalmi adatok alapján feltételezhetjük, hogy a humán pitvari mintákon már jelen lehettek a strukturális remodelling elemei, viszont tény, hogy *de facto* ezt nem ellenőriztük.**

A gyors ingerléssel kiváltott pitvarfibrilláló kutya modellünkben jellemzően maximálisan 6-8 hétig tartott a „paceléses” előingerlés, ezért szintén irodalmi adatok alapján azt feltételeztük, hogy ilyenkor még csak az elektrofiziológiai és kontraktilis remodelling történhetett meg (Allessie, 2002; Jost, 2010), a krónikus/permanens pitvarfibrillációra jellemző strukturális remodelling viszont még nem. Mivel a szíveket itt is standard mikroelektróda és patch-clamp kísérletekre használtuk, morfológiai elemzés nem történt.

A kérdés második része: hogyan módosulnak az általam bemutatott elektrofiziológiai változások strukturális remodelling esetében?

Az AF progrediens lefolyásáért (paroxysmalis → perzisztens → permanens) is elsősorban a szerkezeti (strukturális) remodelling felelős. Főbb összetevői: a pitvarizomzat fibrózisa, a fibro(myo)blastok aktiválódása, a kollagénrostok myocardialis felhalmozódása és lerakódása. A megnagyobbodott/deformált, fibrotikus falú pitvarokban az AF magától értődően előbb-utóbb állandósul (Alessie, 2002). Ennek megfelelően *Heidbüchel* 2003-ban publikált szerkesztőségi cikkének az „*A paradigm shift in treatment of atrial fibrillation: from electrical to structural therapy ?*” címet adta, amivel arra kívánta felhívni a figyelmet, hogy az AF preventív („*upstream/non-channel*”) kezelésének és klinikai lefolyásának *punctum saliens*, nem a rövidebb-hosszabb idő után is jobbra reverzibilis elektromos remodelling, hanem a 3-4 hónap után már jellemzően visszafordíthatatlan szerkezeti átépülés, melynek fő elektropatomorfológiai szubsztátuma a pitvarizomzat (mikro)fibrózisa.

Természetesen ki kell azt is emelni, hogy mivel a szerkezeti remodelling egy igen hosszú ideig tartó folyamat, vannak olyan szerencsés esetek, amikor valakinél sohasem alakul ki komoly átépülés. Adatok vannak arra azért, hogy a strukturális remodelling, beleértve a fibromyoblastok kialakulása igen korán elindulhat, de jelentős fibrózis és pitvartágulat (bal pitvari fal >50 mm) kialakulásához szerencsére igen sok idő, legalább 10-12 hónap szükséges. Ameddig ez nem történik meg, a gyógyszeres (amiodaron, propafenon) és elektromos cardioversiónak (akár kombinálva is) van értelme. Fazekas Tamás professzor úr például leír egy olyan esetet, amikor egy nyolc hónapos dokumentált permanens pitvarfibrilláció fennállásakor sikeres elektromos cardioversiót lehetett elérni masszív amiodaron előkezelés után (Fazekas, 2000). Mindez azt jelenti, hogy a strukturális remodelling megjelenése után sem szabad feladni a reményt a SR helyreállítására, de tény, amennyiben a permanens pitvarfibrilláció már olyan mértékű szerkezeti átépülést okoz, amelyben a fibrózis, illetve a balpitvari tágulat jelentős (> 50 mm), már nem sok értelme van fenntartani egy komoly mellékhatásokkal is rendelkező gyógyszeres (jellemzően amiodaron) antiaritmiás terápiát. Akkor már csak a „*non-ion channel*” un. „*upstream*” terápia megtartása indokolt orvosilag (Fazekas, 2005).

Alessie M, Ausma J, Schotten U (2002). Electrical, contractile and structural remodelling during atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 54:230-246.

Fazekas T, Liskai G (2005). Non-channel drugs to prevent atrial fibrillation. *Orv Hetil* 146(45):2287-2294.

Fazekas T, Liskai G (2000). Orális amiodaron-előkezeléssel facilitált transthoracalis elektromos cardioversio pitvarfibrillációban. *Magyar Belorvosi Archivum* 53, 35-40.

Heidbüchel H (2003). A paradigm shift in treatment of atrial fibrillation: from electrical to structural therapy? *Eur Heart J* 24: 2077-2078.

Jost N, Fazekas T (2010). 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.

**3. kérdés.** *A pitvarfibrillációt vizsgáló kísérleteiben jobb pitvari mintákat használt. A nyert eredmények mennyiben extrapolálhatóak a bal pitvarban zajló folyamatokra? Léteznek karakterisztikus különbségek a két pitvar elektromos remodellációjában?*

A kérdés mindenképpen jogos, már csak azért is, mert a pitvarfibrilláció jellemzően a bal pitvari szövetben alakul ki, és a strukturális remodelling is elsősorban a bal pitvarok megvastagodását eredményezi, amelyek ha elég vastagok lesznek, többszörös reentry körök kialakulását teszik lehetővé, mint ahogy az előző kérdésre adott válaszómban is kiemeltem.

Sajnos ezúttal is elsősorban technikai (konkrétan műtéttechnikai) oka volt, hogy jobb pitvari fülcsékből származó mintákat vizsgáltunk mind standard mikroelektróda technikával (pl. a pitvari NCX áram vizsgálatánál), mind patch-clamp technika segítségével. Több vizsgálat kimutatja, hogy a pitvarfibrillációban is szerepet játszó és a jelen értekezés 3. témakörében részletesen ismertetett káliumáramok ( $I_{to}$ ,  $I_{K1}$ ,  $I_{K,ACH}$ ,  $I_{Kur}$ ), illetve a 4. témakörben vizsgált NCX csereáram, mind a jobb, mind a bal pitvarban jól mérhető létező ionáramok. Egy kooperációban végzett munkában, intézetünk munkatársai kimutatták, hogy az  $I_{to}$  áramot meghatározó Kv4.3, KChIP2 gének, az  $I_{K1}$  áramot meghatározó Kir2.1-Kir2.4 gének, az  $I_{K,Ch}$  áramot meghatározó Kir3.4 gén, az  $I_{Kur}$  áramot meghatározó Kv1.5, illetve végül az szív NCX áramot meghatározó NCX1 gén, ha nem is mindig egyforma mértékben, de mindenképpen egyértelműen jelen van (expresszálódik) mind a bal, mind a jobb pitvari miokardiumban (Gaborit, 2007). A jobb és bal pitvari akciós potenciálokban ismert, hogy vannak eltérések, de alapvetően kimondhatjuk, hogy vélhetően a jobb kamrából származó akciós potenciál és ionáram mérési adatok alkalmasak a levont következtetések megfogalmazására. Minden esetre ezért végeztünk kutyán *in vivo* egész szíves vizsgálatokat is, ahol a regionális különbségek nem számítanak, így úgy vélem, hogy az általunk prezentált jobb kamra szívizompreparátumokból származó adatok lényegében hitelesek a pitvarfibrilláció vizsgálatára. A drezdai kísérletes munkánk során többször volt alkalmunk bal pitvari műteti nyeresedékek vizsgálatára is. Minden vizsgált áramot ( $I_{to}$ ,  $I_{K1}$ , illetve  $I_{K,ACH}$  beleértve konstitutív  $I_{K,ACH}$  áramok) sikerült megmérnünk a bal pitvari miocitákban is, de sajnos az *n=esetszám* nem volt elégséges egy komplett statisztikailag is releváns bal pitvar vs jobb pitvari akciós potenciál és ionáramok tulajdonságok összehasonlító analízis elvégzésére.

Gaborit N, Le Bouter S, Szűts V, Varró A, Escande D, Nattel S, Demolombe S (2007). Regional and tissue specific transcript signatures of ion channel genes in the non-diseased human heart. *J Physiol*, 582:675-693.

**4. kérdés.** *A Jelölt felveti, hogy szívelégtelenekben mérsékelt  $K^+$ -csatornagátló tulajdonsággal rendelkező gyógyszerek Torsades de Pointes-típusú kamrai aritmiát válthatnak ki a repolarizációs rezerv beszűkülése esetén. Miként tartja tesztelhetőnek a repolarizációs tartalék csökkenését klinikai körülmények között? Miként szűrhetőek ki a veszélyeztetett betegek?*

Köszönöm ezt a kérdést, ez valóban fontos kérdéskör, amelynek két aspektusa is van. Az egyik az, hogy feltétlenül szükséges az újonnan kifejlesztett gyógyszerek (akár kardiális, akár nem kardiális gyógyszerek) kamrai proaritmiás mellékhatásának a szűrése („*safety pharmacology*”), a másik pedig az, hogy valóban fontos volna a ritmuszavarokkal kezelésre jelentkező páciensek körében azoknak a beazonosítása vagy szűrése, akiknél valamilyen szerzett vagy veleszületett genetikai betegség következtében már gyengült a repolarizációs tartalék.

Amint az értekezés diszkusziójában is elemzem (126-127-ik oldalak) ma minden kifejlesztett gyógyszerjelölt vegyületnek ellenőrzik a lehetséges proaritmiás hatását (konkrétan ellenőrzik a hatóanyag QTc megnyújtó hatását), úgy, hogy nagy hatásmechanizmusú automata patch-clamp rendszerekben (*high-throughput* rendszerek) ellenőrzik a kísérletes vegyületek hatását a HERG/ $I_{Kr}$  áramra. Amely vegyület gátolja az HERG áramot, azt kivonják a további fejlesztésből. Ez a módszer viszont a repolarizációs tartalék elmélete alapján nem elégséges, sőt kifejezetten megtévesztő lehet, ugyanis kimutattuk, hogy önmagában a gyógyszer indukálta QTc/APD megnyúlás ellenőrzése nem tökéletes marker egy gyógyszer proaritmiás mellékhatásának előre jelzésére. A legújabb kutatások szerint a QT/QTc-intervallum megnyúlása nem képes megbízhatóan előre jelezni a

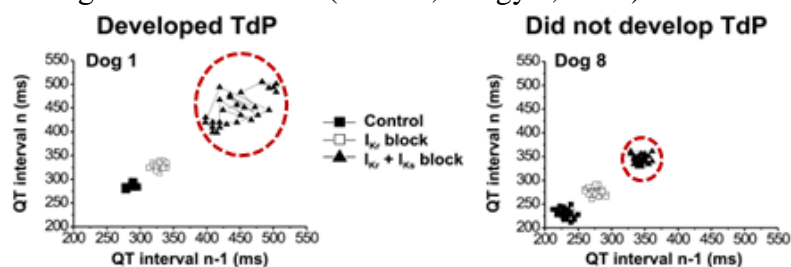
*Torsades de Pointes*-típusú aritmia (*TdP*) kialakulását, mivel a repolarizációs tartalék beszűkülése végbe mehet a szív-izomzat repolarizációs időtartamának jelentős változása nélkül is. Ezért inkább olyan rendszereken kellene tesztelnünk a vegyületeket, amelyekben a repolarizációs tartalék valamilyen módon gyengített, illetve egy olyan marker beazonosítására volna szükség, amely eleve megbízhatóbban jelzi a proaritmia/*TdP* készséget, mint az APD/QTc megnyúlás. Néhány tanulmány igazolta, hogy a rövid távú időbeli repolarizációs variabilitás ( $STV_{QT}$ ) egy újabb faktorként szerepelhet a súlyos kamrai aritmiák és a hirtelen szívhalál rizikójának becslésében és megbízhatóbb markerként jelezheti előre a kamrai aritmiák kialakulási esélyét, mint a QT intervallum megnyúlása. Mindezek alapján az  $STV_{QT}$  paraméter meghatározása alkalmas lehet a magas rizikóval rendelkező betegek megbízható azonosítására (Thomsen, 2004 és 2006). Az  $STV_{QT}$  azért is megfelelő marker mert jól korrelál a *TdP* incidenciával, illetve könnyen vizsgálható és vizualizálható a Poincaré-diagramok területének meghatározása segítségével. Az RR- és a QT-intervallum rövid távú variabilitása ( $STV_{RR}$  és  $STV_{QT}$ ). A „beat-to-beat” szívfrekvencia és repolarizáció instabilitásának jellemzésére elkészíthetjük az RR- és QT-intervallumok Poincaré ábrázolását, ahol minden egyes RR- és QT-értéket a megelőző érték függvényében ábrázolunk. A Poincaré ábrák 30 egymást követő intervallum mérési eredményeit reprezentálják sinusritmusban, adott kísérleti időpontban. A repolarizáció tartalék gyengítését, például előzetes  $I_{Kr}$  gátlással (dofetiliddel) tudjuk elérni, majd a gyengített repolarizációs tartalékkal rendelkező mintán lehet ellenőrizni a vizsgálni kívánt vegyület lehetséges proaritmiás (*TdP* indukáló) hatását.

Az  $STV_{RR}$  és  $STV_{QT}$  értékeit a következő képlet segítségével lehet kiszámolni:

$$STV = \sum |D_{n+1} - D_n| (30 \times \sqrt{2})^{-1}$$

ahol D a QT vagy az RR-intervallum időtartama. Az RR- és QT-intervallum instabilitás jellemzése a Poincaré-térkép kvalitatív és kvantitatív (pl. Poincaré diagramok területének mérése) analízisen alapszik.

Intézetünk munkatársaival mi is kidolgoztunk egy altatott kutya, illetve nyúl modellt, amelyben a szív repolarizáció tartalékát  $I_{Kr}$ -gátlással (dofetiliddel) gyengítettünk, majd az így gyengített repolarizációs tartalékkal rendelkező szíven vizsgáltuk meg az  $I_{Ks}$  áram gátlás additív hatását kutyán (**I. ábra**, Lengyel, 2007), vagy a diklofenák hatását nyúlra (Kristóf, 2012). Az értékeléshez a szereznek az RR-, illetve QT intervallumok rövid távú variabilitásra gyakorolt hatását használtuk, és sikeresen igazoltuk, hogy a *TdP* kialakulásának esélye korrelál a Poincaré diagramok területével (**I. ábra**, Lengyel, 2007).



**I. ábra.** A *Torsades de Pointes* (*TdP*) aritmia kialakulása jobban korrelál a rövid távú QT-intervallum variabilitással, mint a QTc változás vizsgálatával  $I_{Kr}$ -áram gátlással gyengített repolarizáció rezerves kutyában. Az ábra két reprezentatív egyéni Poincaré diagramon mutatja be a QT intervallum rövid távú variabilitását kombinált  $I_{Kr}$  (dofetilid) és  $I_{Ks}$  (HMR-1556) gátlás következtében. Jól látható, hogy a bal oldali panelen a Poincaré diagram területe (szaggatott vonalú körrel jelölt) sokkal nagyobb volt, mint a jobb oldali panelen bemutatott diagramban. A bal oldali diagramon (széles területű Poincaré diagram) bemutatott kutyában kialakult a *TdP* aritmia, amíg a jobb oldali felvételen bemutatott kutya esetében (ahol a Poincaré diagram csökkent területű) a kombinált  $I_{Kr}+I_{Ks}$  gátlás ellenére nem alakult ki *TdP* (Lengyel, 2007).

- Kristóf A, Husti Z, Koncz I, et al (2012). Diclofenac prolongs repolarization in ventricular muscle with impaired repolarization reserve. PLoS One 7(12):e53255.
- Lengyel C, Varró A, Tábori K, Papp JG, Baczkó I (2007a). Combined pharmacological block of  $I_{Kr}$  and  $I_{Ks}$  increases short-term QT interval variability and provokes torsades de pointes. Br J Pharmacol. 151(7):941-951.
- Thomsen MB, Volders PG, Beekman JD, Matz J, Vos MA (2006). Beat-to-Beat variability of repolarization determines proarrhythmic outcome in dogs susceptible to drug-induced torsades de pointes. J Am Coll Cardiol. 48(6):1268-1276.
- Thomsen MB, Verduyn SC, Stengl M, et al. (2004). Increased short-term variability of repolarization predicts d-sotalol-induced torsades de pointes in dogs. Circulation, 110: 2453– 2459.

**5. kérdés.** *Fiziológiás szívhipertrofiában miként változik a repolarizációs esetlegesen sújtó hirtelen szívhalál hátterében mennyiben expressziójának fizikai terhelésre bekövetkező változása?*

Az élsportolók szíve reverzibilis fiziológiás hipertrofiával (*un.* „sportszív”) adaptálódik a sportteljesítmény eléréséhez szükséges igényekhez (Scharhag, 2002; Atchley, 2007; Paolo, 2007). Állatkísérletek eredményei szerint a reverzibilis szív hipertrofia több transzmembrán ioncsatorna között az  $I_{Ks}$  downregulációját eredményezi (Volders, 1998; 1999). Ez utóbbi a repolarizációs rezerv gyengüléséhez vezethet (Lengyel, 2011) és más egyéb kockázati tényezőkkel (hipokalémia, hypertrophiás cardiomiopathia, dopping, stb.) együtt szerepet játszhat az ugyan nagyon ritka, de nagy sajtóvisszhangot keltő tragikus sportolói hirtelen szívhalál kialakulásában (Varró, 2009, 2010).

- Atchley AE, Douglas PS (2007). Left ventricular hypertrophy in athletes: morphologic features and clinical correlates. Cardiol Clin 25:371-382.
- Lengyel C, Orosz A, Hegyi P, et al (2011). Increased short-term variability of the QT interval in professional soccer players: possible implications for arrhythmia prediction. PLoS One 6(4):e18751.
- Paolo FM, Pelliccia A (2007). The “Athlete’s heart”: relation to gender and race. Cardiol Clin 25:383-389.
- Scharhag J, Schneider G, Urhausen A, et al (2002). Athlete’s heart. J Am Coll Cardiol 40:1856-1863.
- Varró A (2009). Sportolók hirtelen szívhalála. Ahogyan a kísérletes szív-elektrofiziológus látja. LAM 19:105–111.
- Varró A, Baczkó I (2010). Possible mechanisms of sudden cardiac death in top athletes: a basic cardiac electrophysiological point of view. Pflugers Arch. 2010; 460:31-34.
- Volders PGA, Sipido KR, Vos MA, et al (1998). Cellular basis of biventricular hypertrophy and arrhythmogenesis in dogs with chronic complete atrioventricular block and acquired torsade de pointes. Circulation 98:1136-1147.
- Volders PGA, Sipido KR, Vos MA, et al (1999). Downregulation of delayed rectifier  $K^+$  currents in dogs with chronic complete atrioventricular block and acquired torsades de pointes. Circulation 100:2455-2461.

**6. kérdés.** *Milyen molekuláris alapja lehet az észlelésüknek, mely szerint az RL-3 racém vegyület két optikai enantiomerje ellentétes módon képes befolyásolni az  $I_{Ks}$  áramot?*

Köszönöm a kérdést. Mi nem vizsgáltuk, hogy ennek mi lehet az oka, de a jelenség már régen ismert korábbi hasonló tanulmányokból (de Luca, 1991). A két enantiomernél nem meglepő hogy csak az egyik köt aktívan az ortoszterkius kötőhelyen és vált ki aktivátor hatást. A biciklusos, négy királis centrummal is rendelkező enantiomereknél a receptorkötőhely királis megkülönböztetése kiemelten működhet ebben az esetben. Ugyanakkor a másik enantiomer

nyilván nem az ortoszerikus kötőhelyhez, hanem egy másik, *un.* alloszterikus kötőhelyhez tud kapcsolódni, amely így a gátló hatásért felelős, mégpedig úgy, hogy valószínűleg deaktiválja a csatornát. Nyilván ennek bizonyításához a kötőhelyek és a két enantiomer kötődésének feltérképezése és modellezése szolgálhatna egyértelmű bizonyítékként, de ezek hiányában csak a megfigyelt eredmények támasztják alá ezt a feltételezést.

De Luca A, Tricarico D, Wagner R et al (1991). Opposite effects of enantiomers of clofibric acid derivative on rat skeletal muscle chloride conductance: antagonism studies and theoretical modeling of two different receptor site interactions. *J Pharmacol Exp Ther* 260(1):364-368.

**7. kérdés.** *A Jelölt által bemutatott eredmények szerint a dronedaron kedvező elektrofiziológiai profillal rendelkezik. Mennyiben váltotta be a szer a hozzá fűzött reményeket? Milyen tanulságok vonhatóak le a később végzett klinikai tanulmányok alapján?*

A dronedaron klinikai bevezetését a Sanofi-Aventis Gyógyszergyár óvatosan kezdeményezte és követte azt a protokollt, amelyet a kétezres évek elején más gyógyszergyárak is alkalmaztak. A gyógyszert először egy a pitvarfibrilláció kezelésére alkalmazható antiaritmiás gyógyszerként törzskönyvezték, és ha ott valóban sikeresen beváltak, később célzott klinikai vizsgálatok segítségével indikációját kiterjesztik és javasolják általános kamrai ritmuszavarokra alkalmazható antifibrilláns gyógyszernek is.

A dronedaron volt az elmúlt 20 év talán legklasszikusabb amiodaron-szerű vegyület fejlesztése. A dronedaron egy amiodaron kongéner vegyület, vagyis egy az amiodaron kémiai szerkezetéhez hasonló benzofuran származék, viszont hiányzik belőle a jódatom, amelytől a pajzsmirigy szervtoxicitás megszűnését remélték. Ráadásul a metaneszulfonamid csoport hozzáadásával a gyógyszermolekula lipofiliáját mérsékeltek, így a dronedaron eliminációs félféletideje *cca.* 24-31 óra, ezért 4-6 nap alatt kiürül a szervezetből. Ettől további szervtoxicitás csökkenést vártak. A dronedaron klinikai kipróbálását az általunk végzett (és az értekezésben is bemutatott) *in vitro* vizsgálatok pozitív eredményeire építve kezdték el. A vegyület klinikai alkalmazása komoly sikereket ért el az elején. Az első öt fázis III klinikai vizsgálatban a dronedaron sikeresen vette az akadályokat, így sorrendben következtek a DAFNE, EURIDIS/ADONIS, ERATO, ANDROMEDA és végül az ATHENA vizsgálatok.

Az ATHENA vizsgálat, volt a legsikeresebb áttörési pont, ráadásul kétségkívül magas páciens számon végezték ( $n=4628$ ; Hohnloser, 2009). Az ATHENA vizsgálat eredményeként a dronedaron (Multaq néven) végül 2009-ben megkapta az FDA (amerikai gyógyszerhatóság, Food and Drug Administration) előzetes, majd végleges engedélyét is (FDA-Center for Drug Evaluation and Research, 2009). Az engedély alapján a dronedaron egy olyan antiaritmiás szer, amely csökkenti a kardiovaszkuláris hospitalizációt paroxizmális és perzisztens pitvarfibrillációban (AF-ben) és pitvari flatterben (AFlu, atrial flutter). A fejlesztési várakozásoknak megfelelően extrakardiális mellékhatásokat (pajzsmirigy, tüdő-, májtoxicitást) is csak elvétve észleltek (Hohnloser, 2009).

Ezt követték a DIONYSOS (Le Heuzey, 2010), majd a randomizált, kettős vak, placebo kontroll csoportos PALLAS vizsgálatok, amelybe 65 évnél idősebb nagy CV-kockázatú, súlyos szív- és cukorbetegeket ( $n=3236$ ) válogattak be (Conolly, 2011). A két új vizsgálat eredménye ezúttal viszont több mint nyugtalanító volt, különösen a vizsgálat primer végpontjainak szemszögéből (cerebrális vagy szisztémás artériás embolizáció+akut miokardiális infarktus és/vagy CV halál). A PALLAS-tanulmány eredményeinek közzététele után az Európai Gyógyszerügynökség nyomatékosan javasolta a dronedaron terápia

megszorítását (EMA, 2011). A legfontosabb megállapítás és megszorító ajánlás a következő volt: *i*) a dronedaron kezelést csak olyan paroxizmális vagy perzisztens AF-ben szenvedő betegek esetében szabad alkalmazni, **akikben a szinusz ritmus már helyreállt**. Nem indikált a dronedaron alkalmazása olyan betegek esetében akikben a pitvarfibrilláció még jelen van; *ii*) dronedaronnal történő kezelést csak szakorvos kezdeményezhet amennyiben már más antiaritmiás szer kipróbálásra került, és hatástalannak bizonyult; *iii*) a dronedaron kezelés nem alkalmazható permanens AF-ben, szívelégtelen, illetve balkamrai diszfunkcióban szenvedő betegeken; *iv*) a kezelő orvosnak azonnal meg kell állítania a dronedaron terápiát, amennyiben az AF kiújul; *v*) a dronedaron nem választható terápia, amennyiben a betegnek már volt amiodaron vagy egyéb antiaritmiás kezelés okozta korábbi máj vagy tüdőtoxicitása; dronedaron kezelés esetén kötelező a máj illetve tüdőfunkciók monitorozása, különösen a terápia első heteiben (EMA, 2011).

Ki kell emelni, hogy a döntés háttérben vélhetően nemcsak a PALLAS trial negatív eredményei álltak, hanem jelentős mértékben figyelembe vették azt is, hogy a dronedaron klinikai fázis 4 vizsgálati szakaszban számos olyan további bejelentés érkezett az FDA-hez, amely bizonyítja, hogy a dronedaron: *i*) emeli CV morbiditást/mortalitást (FDA 2011a); *ii*) olyan súlyos májkárosodást okozott (FDA, 2011b), amely miatt több esetben heveny májelégtelenség miatt sürgős szervátültetésre is szükség volt (Joghetaei, 2011; EMA, 2012).

Fentiek alapján elmondható, hogy a dronedaron kifejlesztése egy plauzibilis alapötletből indult. A kezdeti eredmények ráadásul biztatóak voltak, sőt adott pillanatban sikertörténetnek is tűnt, majd az újabb eredmények sajnos kimutatták, hogy az optimizmus korai volt, a dronedaron csak egy -és sajnos még csak nem is a legjobb- az adható AF elleni gyógyszerek között. Mivel sem hatásossága, sem biztonsága nem kielégítő, jelenlegi indikációi alapján már csak második vagy harmadik vonalbeli gyógyszerként alkalmazható kis szív-érrendszeri (CV) kockázattal bíró, normális vagy alig károsodott kamrafunkciójú, szimptomás, intermittálóan pitvarfibrilláló betegek sinusritmusának megőrzése végett (Singh, 2010).

Conolly SJ, Camm AJ, Halperin JL, et al for the PALLAS Investigators. (2011). Dronedaronone in high-risk permanent atrial fibrillation. *N Engl J Med* 365: 2268–2276.

EMA-European Medicines Agency (2012). Assessment report for Multaq ([https://www.ema.europa.eu/documents/variation-report/multaq-h-c-1043-a20-05-epar-assessment-report-variation\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/variation-report/multaq-h-c-1043-a20-05-epar-assessment-report-variation_en.pdf))

EMA (2011). European Medicines Agency recommends restricting use of Multaq. [https://www.ema.europa.eu/documents/press-release/european-medicines-agency-recommends-restricting-use-multaq\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/press-release/european-medicines-agency-recommends-restricting-use-multaq_en.pdf)

FDA-Drug Safety Communication (2011b). Severe liver injury associated with the use of dronedarone (marketed as Multaq) (<https://wayback.archive-it.org/7993/20170722190003/https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm240011.htm>)

FDA-Drug Safety Communication (2011a). Multaq (dronedarone) and increased risk of death and serious cardiovascular adverse events (<https://wayback.archive-it.org/7993/20170722185848/https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm283933.htm>).

FDA-Center for Drug Evaluation and Research (2009). Multaq (dronedarone) prescribing information [Online]. [cited July 15, 2009]. Available from: URL: [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2009/0224251bl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/0224251bl.pdf)

Hohnloser SH, Crijns HJ, van Eickels M, Gaudin C, Page RL, Torp-Pedersen C, Connolly SJ, ATHENA Investigators (2009). Effect of dronedarone on cardiovascular events in atrial fibrillation. *N Engl J Med* 360(7):668-678.

Joghetaei N, Weirich G, Huber W, et al (2011). Acute liver failure associated with dronedarone. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 4(4):592-593.



Le Heuzey JY, DE Ferrari GM, Radzik D, et al (2010). A short-term, randomized, double-blind, parallel-group study to evaluate the efficacy and safety of dronedarone versus amiodarone in patients with persistent atrial fibrillation: the DIONYSOS Study. *J Cardiovasc Electrophysiol* 21: 597– 605.

Singh D, Cingolani E, Diamond GA, Kaul S (2010). Dronedarone for atrial fibrillation. Have we expanded the antiarrhythmic armamentarium? *J Am Coll Cardiol* 55:1569-1576.

Végezetül még egyszer szeretném megköszönni Szokodi István Professzor Úrnak igényes és alapos bírálatát, érdekes kérdéseit és az értekezésemről írott elismerő szavait. 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