

# A sinuscsomó spontán automatáciájának mechanizmusa: egy két évtizedes vita krónikája

Nagy Norbert<sup>1,2</sup>, Varró András<sup>1,2</sup>, Tóth András<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>MTA-SZTE Keringéscsontológiai Kutatócsoport, Szeged

<sup>2</sup>SZTE-ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szeged

Levelezési cím: Dr. Tóth András, SZTE-ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, 6720 Szeged, Dóm tér 12.

E-mail: toth.andras@med.u-szeged.hu

A sinuscsomó spontán automatációja létfontosságú elektrofiziológia folyamat, amely pontos mechanizmusának a felderítése az 1950-es évek óta intenzív kutatás tárgya. Ezen felül, a spontán ingerképzés abból a szempontból is különleges, mert talán nem túlzás azt állítani, hogy az utóbbi három évtized talán legizgalmasabb vitáját váltotta ki az experimentális kardiológiában. Az évek során több uralkodó nézet létezett, amely igyekezett megmagyarázni a spontán ingerképzést, majd az egyre szaporodó és egyre korszerűbb eszközökkel végzett kísérletes eredmények következtében többször is paradigmaváltásra került sor. Ebbe a sodró lendületű vitába az évtizedek alatt számos kutatócsoport bekapcsolódott, értékes eredményekkel gazdagítva tudásunkat, több esetben jelentős tudományos vitát generálva ezzel, mígnem eljutottunk a ma elfogadott szemléletig. Jelen közlemény célja, hogy összegezze a spontán automatácia kutatásában elért legfőbb mérföldköveket, végigvezetve az olvasót az egyes uralkodó nézeteken, egészen a ma elfogadott álláspontra.

**Kulcsszavak:** sinus, funny-áram, spontán diasztolés depolarizáció, Ca<sup>2+</sup>-óra, membrán óra

## Mechanism of the sinus node spontaneous automacy: chronicle of two decades of debate

The discovery of the exact mechanism of sinus node pacemaking process has initiated intensive research from 1950. Furthermore, the spontaneous automaticity is particular because it generated perhaps one the most interesting debate in the past three decade of experimental cardiology. During these years several dominating hypothesis were existing to explain the pacemaking mechanism, and then by the increasing number of the available experimental results have lead to several change of the actual paradigm. Several laboratories provided important result promoting the research, often generating intensive debates until getting to the current accepted view. The aim of this study is to summarize the most important milestones in the research of spontaneous automaticity, guiding the reader through the dominant hypothesis to the actual accepted concept.

**Keywords:** sinus, funny-current, spontaneous diastolic depolarization, Ca-clock, membrane clock

## Bevezetés

A szív folyamatos kontraktilis működése az élet nélkülözhetetlen feltétele, amely a sinus (SA) csomóban zajló, összetett és precíz elektrofiziológiai működés által válik lehetővé, amely minden külső idegi és hormonális szabályozástól függetlenül képes a szívizom kontrakcióját egy élethosszon át biztosítani. Nem meglepő ezek alapján, hogy a szív spontán automatációja már évszázadokkal korábban felkeltette a tudósok érdeklődését, azonban az igazi áttörés csak a XIX. század végén

kezdődött, amikor *Wilhelm His* felfedezte a később róla elnevezett His-köteget, majd később *Sunao Tawara* az atrioventriculáris (AV) csomót, végül *Arthur Keith* és *Martin Flack* a sinuscsomót.

Az SA-csomó működése során folyamatos, ritmikus, spontán akciós potenciálokat (AP) generál, amelyek a pitvari munkaizomzaton és az AV-csomón keresztül továbbterjednek a kamrai munkaizomzat felé. A többi szívizomsejtől eltérően a SA-csomóban levő sejtek kontraktilis apparátusa meglehetősen fejletlen, ami jelzi, hogy ezen régió elsősorban elektromos funkciót lát el.

Az első elektrofiziológia felvételek során (1) nyilvánvalóvá vált, hogy az SA-csomóban generált AP-k morfológiája jelentősen eltér a szívmunkaizomrostjaiból regisztrált AP-kétől. A legnegatívabb membránpotenciál érték a kamrai, illetve a pitvari szívműködéshez képest jelentősen depolarizáltabb értéket vesz fel (~50 mV), a depolarizáció fázisa lassabb és kisebb amplitúdójú. A platófázis gyakorlatilag hiányzik, és a repolarizációt követően egy úgynevezett lassú diasztolés depolarizáció (DD) kezdődik el, amely a küszöbpotenciált elérve újabb AP-t vált ki (2). Ennek következtében a DD mögött megbúvó elektrofiziológiai folyamatok tehetők felelősség a spontán automatia kialakulásáért, amelynek pontos működése évtizedek óta vita tárgyát képezi a tudósok körében.

### Korai elképzelések a Purkinje-rost spontán automatia mechanizmusáról: az $I_{K2}$ -hipotézis

A pacemaker-funkcióra vonatkozó első tudományos munkák elsősorban Purkinje-rostban készültek, hiszen a spontán automatia ezen szövettípusban is jelen van, ugyanakkor sokkal könnyebben izolálható és tanulmányozható. Az 1960-as évek elején két fő repolarizáció áramot azonosítottak: az időfüggetlen, és befelé egyenirányító  $I_{K1}$ -et (3, 4), valamint a lassú, és az időfüggő  $I_{K2}$ -t (5). A birka Purkinje-rostban is mérhető spontán DD-ért az  $I_{K2}$ -áram lassú deaktivációját, valamint a háttér-depolarizáló áramok együttműködését tartották felelősnek (6, 7). Az elméletet tovább erősítette, hogy az  $I_{K2}$ -áram adrenalin mediált  $\beta$ -adrenerg stimulációja fokozta a spontán automatit (8).

### Az SA-csomó automatíája: az $I_f$ („funny”) áram felfedezése és szerepe

Az adrenalin szívfrekvencia-fokozó szerepét SA-ban már megfigyelték (9), habár a közreműködő mechanizmus még ismeretlen volt. *DiFrancesco és munkatársai* 1979-ben nyúl SA-csomón leírtak egy új áramot, amelyet különleges tulajdonságai miatt „funny”-nak neveztek el ( $I_f$ ) (10), amelyből fakadóan felelőssé tehető az adrenalin által okozott frekvenciafokozó hatásért (11). Mivel az áram ionális háttérét ekkor még nem sikerült azonosítani, így azt sem tudták, hogy az  $I_f$ -áram azonos-e a Purkinjében leírt  $I_{K2}$ -árammal. Megfigyelték azonban, hogy a két áram több szembeötlő hasonlóságot mutat:

- az  $I_{K2}$ -hiperpolarizáció hatására deaktiválódik, ugyanabban a feszültségtartományban ahol az  $I_f$  működik.
- Az adrenalin hatása a két áramra nagyon hasonló. Egy évvel később, nyúl SA-csomón végzett kísérle-

tek rávilágítottak arra, hogy a csökkent extracelluláris  $Na^+$  jelentősen csökkenti az  $I_{K2}$ -áram amplitúdóját, valamint az áram a külső  $K^+$ -szintjétől is jelentősen függött, amely arra a konklúzióra vezetett, hogy kevert ámról lehet szó (12).

A fenti eredmény mérőföldkőnek bizonyult a szív-elektrofiziológiában mivel felvetette a kérdést, hogy hogyan lehetséges, hogy két különböző áram ( $I_f$  és  $I_{K2}$ ), amelyek különböző ionális természetűekkel rendelkeznek, két teljesen különböző szövettípusban ugyanazt a pacemaker mechanizmust hozzák létre.

### Az $I_{K2}$ újraértelmezése – A „funny” áram felfedezése Purkinje-rostban

A kérdést 1981-ben sikerült megválaszolni a Purkinje-rostban levő  $I_{K2}$  reinterpretációja révén (13). Alacsony koncentrációjú  $Cs^{2+}$  ugyanis csökkentette az időfüggő  $I_{K2}$ -áramot, így a teljes áram még inkább kl-felé haladóvá vált, jelezvén, hogy az  $I_{K2}$ -áram inward természetű. A  $Ba^{2+}$  jelenlétében elvégzett kísérletek pedig arra engednek következtetni, hogy az  $I_{K2}$ -áram hiperpolarizációra nyílik és depolarizációra záródik. A vizsgálatok alapján világossá vált, hogy az  $I_{K2}$  nem lehet tiszta  $K^+$ -áram, inkább egy -50 mV-nál negatívabb, hiperpolarizációra aktiválódó depolarizáló áram, amely bizonyította, hogy a Purkinje-rostban talált  $I_{K2}$  valójában azonos az SA-csomóban korábban felfedezett  $I_f$ -árammal (13). Az  $I_f$ -nek a Purkinje-rost spontán automatíában betöltött szerepét egy másik munkacsoport is bizonyította 1983-ban (14).

### Az $I_f$ -áram pontos természetének és szerepének feltárása

Biofizikai tulajdonságok

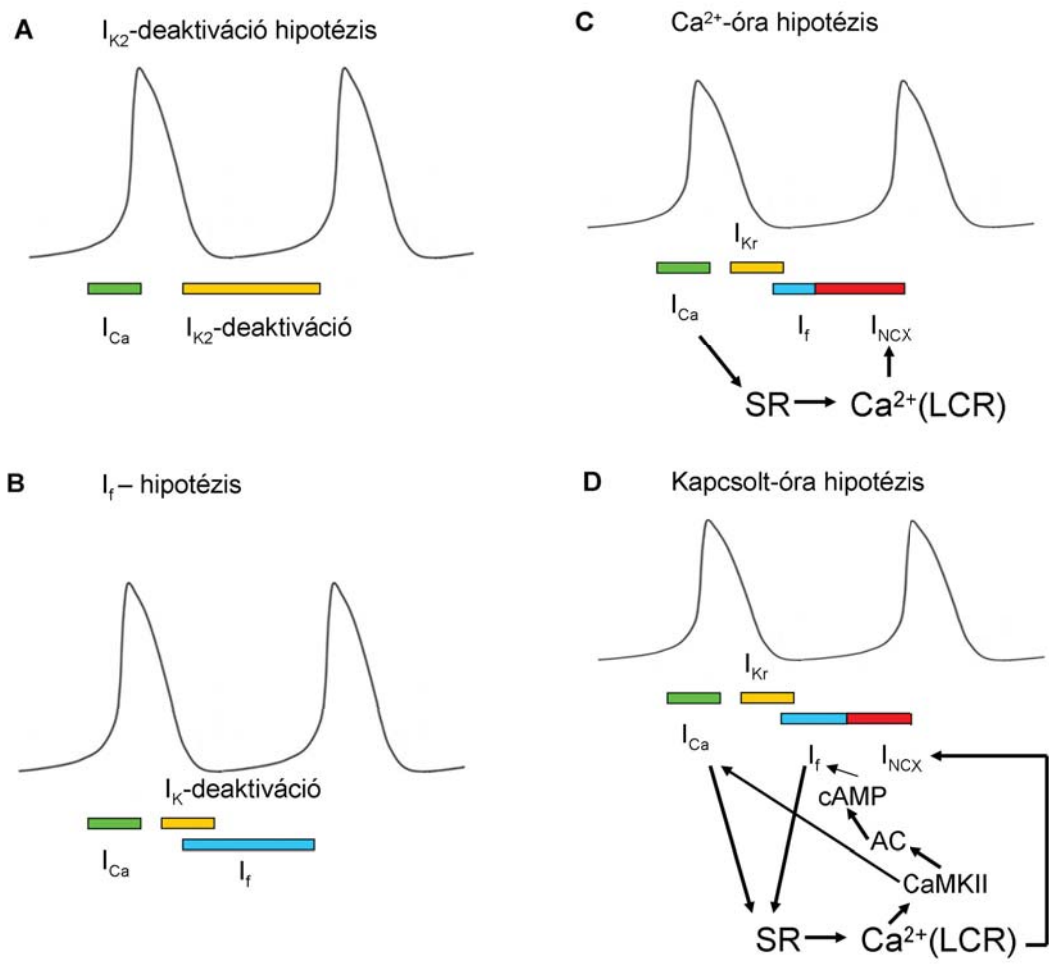
Az 1980-as évek elején  $BaCl_2$ -dal végzett kísérletek tisztázták, hogy az  $I_f$ -áram reverzál potenciálja ( $E_f$ ) a K-egyensúlyi potenciáltól pozitívabb tartományban található (-20 – -30 mV), amely egyaránt függ mind a külső  $Na^+$  valamint  $K^+$ -szinttől, bizonyítva hogy a csatorna mindkét ionra permeábilis (15). Az áramfeszültség karakterisztika a membránpotenciál széles tartományában közel lineáris, azonban különösen alacsony extracelluláris  $K^+$ -szinttel kl-felé egyenirányító tulajdonságot mutat (15). Mind a  $Cs^{2+}$  mind a  $Rb^{2+}$ -ionok hatékonyan gátolták a csatornát (15).

### Korai elképzelések az autonóm idegrendszer frekvenciaszabályozásáról

Régi megfigyelés hogy a frekvencia változása (mind a  $\beta$ -adrenerg, mind a muszkarin jelátvitel) befolyá-

Rövidítések:

AP: akciós potenciál; DD: spontán DD depolarizáció; SA-csomó: sinuscsomó; AV-csomó: atrioventricularis csomó; AC: adeniát-cikláz; SR: szarkoplazmatikus retikulum; ACh: acetilkolin;  $I_f$ : funny-áram



**1. ÁBRA.** Az SA-csomó spontán ingerképzésének hipotézisei. **A:** a legkorábbi magyarázat a DD kialakulását a repolarizáló K-áramok deaktivációjával értelmezte. **B:** A funny áram felfedezését követően a DD mechanizmusának elfogadott magyarázata az  $I_f$ -áram révén létrejövő lassú depolarizáció volt. **C:** A  $Ca^{2+}$ -óra hipotézis az SR-ből spontán és ritmikus felszabaduló  $Ca^{2+}$  jelentőségét hangsúlyozta, amely az NCX-en keresztül hozzájárul a diasztolés depolarizációhoz. **D:** Mai elfogadott nézet szerint az  $I_f$  és az NCX kapcsolatosan működik és az ingerképzés aktuális frekvenciáját együtt határozzák meg

solja az SA-csomó DD-nek meredekségét. Különösen fontos, hogy az alacsony dózisu izoprenalin (0,1  $\mu$ M) és acetilkolin (ACh; 0,01  $\mu$ M) nem befolyásolja a SAN AP konfigurációját, kizárólag a DD meredekségét növeli, illetve csökkenti. 1980-ban feltételezték, hogy a  $\beta$ -adrenerg aktiváció az adenilát-cikláz (AC) fokozásán keresztül növeli a cAMP-szintet, és fokozza az  $I_f$ -áramot. Hasonlóképpen, az ACh az  $I_f$  aktivációs görbéjét negatívabb értékek felé eltolva csökkenti az áram relatív részvételét a spontán DD-ben (16, 17). Habár korábbi munkák eredményeként ismert volt, hogy az adrenalin fokozza az  $I_K$ -áramot is (18), valamint az ACh serkenti a kálium-permeabilitást egy speciális – akkor még nem pontosan ismert – specifikus csatorna megnyitása által (19), a frekvenciaszabályzás elsődleges kontroll mechanizmusának az  $I_f$ -áram amplitúdójának modulálását tartották (20).

### Az $[Ca^{2+}]_i$ potenciális szerepe a frekvenciaszabályzásban: az $I_f$ új kihívója

Habár volt néhány eltérő elmélet, amely más mechanizmusok szerepét is hangsúlyozta a spontán automatia mechanizmusában, az  $I_f$ -áram 1979-es felfedezésétől kezdve gyakorlatilag egyeduralgoló volt a spontán automatia mechanizmusának értelmezésében. Mind SAN-ban, mind Purkinje-rostban a spontán DD domináns mechanizmusának számított, valamint az autonóm idegrendszer által közvetített frekvenciamoduláció elsődleges mediátorának tartották, amely a DD meredekségének szabályozásával fokozza vagy csökkenti a spontán tüzelési frekvenciát. 1979-től a 90-es évek közepéig hatalmas mennyiségű adat látott napvilágot az  $I_f$ -ról – gyakorlatilag számottevő cáfolat vagy kritika nélkül – és néhány, későbbi tudásunk alapján erősen kétséges eredményt (21, 22) leszámítva az  $I_f$ -elmélet nem talált méltó kihívó-

ra. Így volt ez egészen 1996-ig, amikor is egy merőben új elmélet látott napvilágot. *Rigg és munkatársai* (23) 2  $\mu\text{M}$  rianodin és 100  $\mu\text{M}$  ciklopiazonsav (rianodinreceptor-gátló) alkalmazásával depletálták az intracelluláris kalcium raktárt, amelynek eredményeképpen jelentős frekvenciacsökkenést (~30%) tapasztaltak, hangsúlyozván az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  szerepét a frekvenciaszabályozásban. Ezt a felfedezést követően, néhány év alatt számos publikáció került közlésre, amelyek megalapozták a  $\text{Ca}^{2+}$  ciklus szerepét a ritmusgenerálásban. Ezen közlemények legfontosabb megállapításai a következők:

- a koffein gyors perfúzióban történő alkalmazása megállítja a SAN-sejtek spontán működését ~20 mp-re, amely arra utalhat, hogy az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -mozgások részt vehetnek a spontán automáciában. A 20 mp az újratöltődéshez szükséges idő lehet (24).
- A rianodin így az SR  $\text{Ca}^{2+}$ -tartalmának gátlása révén csökkenti a frekvenciát (25).
- Az  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  a szarkolemmális  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -kicserélő (NCX) forward módja révén hagyja el a sejtet, amely elektrogén pumpa révén depolarizáló, inward áramot generál. Így, az  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  az NCX révén csatolódhat át membránpotenciál változásba, és közvetítheti az  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  frekvenciamoduláló hatását. Az NCX-aktivitást  $\text{NiCl}_2$ -al határozták meg (25, 26, 21).
- Isoprenalinnal valamint alacsony és magas dózisz rianodinnal végzett kísérletek azt sugallják, hogy a  $\beta$ -adrenerg moduláció során létrejövő szívfrekvencia-fokozódás, legalább részben, az SR  $\text{Ca}^{2+}$ -tartalom és NCX-áram növekedése által jön létre (27).

2001-ben *Edward Lakatta munkacsoportja* (28) egy újabb, mérföldkőnek számító megfigyeléssel vitték tovább a  $\text{Ca}^{2+}$ -ciklus frekvenciaszabályozásban betöltött szerepének vizsgálatát. Macska spontán működő pitvari sejteken még a „hagyományos”  $\text{Ca}^{2+}$ -tranzien kialakulása előtt az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  spontán emelkedését figyelték meg (local  $\text{Ca}^{2+}$  release – LCR), amely rianodin szenzitív és az NCX-en átcsatolódva befolyásolja a DD-t. A rianodin negatív kronotróp hatása az AP-t megelőző  $\text{Ca}^{2+}$ -hullámok eltűnésének tulajdonítható (28).

Ugyanez a kutatócsoport egy 2002-ben publikált közleményében megállapította, hogy a  $\beta$ -adrenerg moduláció következtében létrejövő pozitív kronotróp hatás kialakulásához intakt rianodin receptorokra van szükség (29, 30), sőt mi több állításuk szerint az  $I_f$ -áram nem jelentős tényező a spontán automácia létrehozásában, hiszen az  $I_f$   $\text{CsCl}_2$ -al történő gátlása során kevesebb, mint 20%-os frekvenciacsökkenést tapasztaltak. Ez utóbbi állítást *Difrancesco és munkacsoportja* hevesen cáfolta (31), egy szerkesztőnek címzett levélben, amellyel egy hosszan tartó vita kezdett kibontakozni. Érveik szerint a korábban alkalmazott  $\text{CsCl}_2$ -koncentráció nem elégséges az  $I_f$  teljes gátlására, valamint a rianodinnal történő  $\text{Ca}^{2+}$ -depléciónak jelentősen befolyásolja azokat a  $\text{Ca}^{2+}$ -függő mechanizmusokat, amelyek a normál automáciához, és a  $\beta$ -adrenerg modulációhoz szükségesek (32).

## „Membrán óra” hipotézis versus „ $\text{Ca}^{2+}$ -óra” hipotézis: érvek és ellenérvek

A 2000-es évek elejére nyilvánvalóvá vált, hogy két konkurens mechanizmus áll egymással szemben a spontán automácia magyarázatára: a *Difrancesco és munkacsoportja* által képviselt  $I_f$  (pacemaker) áram és a főleg *Lakatta és csoportja* által kutatót intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -mozgások. A vita nem is elsősorban az egyik vagy másik folyamat meglétéről folyt, hanem sokkal inkább arról, hogy melyik mechanizmus a domináns a másik felett.

2003-ban, a *Difrancesco csoport* (33) közölt egy tanulmányt, amelyben eredményeik szerint a rianodin valóban lassítja a frekvenciát, de a bradycardia oka a pozitívabbá váló küszöbpotenciál, és nem a DD-depolarizáció meredekségének csökkenése. Véleményük szerint a spontán  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulások (LCR) a T-típusú  $\text{Ca}^{2+}$ -csatorna működésének eredményeképpen jönnek létre, fokozzák az ingerképzés biztonságát, de nem befolyásolják érdemben a DD-depolarizáció meredekségét. Továbbá a  $\beta$ -adrenerg moduláció nem függ az SR  $\text{Ca}^{2+}$ -tartalmától, mert az  $I_f$ -áram érzékeny a cAMP-szintre, és rianodin jelenlétében is fokozza a frekvenciát. Véleményük szerint a rianodin tönkreteszi a normál  $\text{Ca}^{2+}$  homeosztázist, amely szükséges a  $\beta$ -adrenerg moduláció kialakulásáért (33).

2004-ben, mintegy erre reflektálva, *Lakatta és munkacsoportja* további jelentős eredményekkel körvonalazta a  $\text{Ca}^{2+}$ -ciklus automáciát szabályozó szerepét. A lokális  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulások (LCR), ritmikusak nem igényelnek előzetes membránpotenciál-változást, így  $\text{Ca}^{2+}$ -csatorna nem szükséges kiváltásukhoz. Minden LCR egy befelé irányuló áramimpulzust (NCX) indukál, amely hozzájárulhat a DD-hez, továbbá az LCR-ek periódusideje szoros kapcsolatban áll az AP-k ciklushosszával, így az LCR-ek frekvenciája fontos szabályozó tényező (34). Megállapították, hogy a DD két részre osztható a korai, lineáris rész elsősorban az  $I_f$  és az  $I_{Kr}$ -deaktiváció szabályozása alatt áll, míg a későbbi nonlinearis rész, amely alatt az LCR-ek történnek, az NCX által szállított befelé irányuló  $\text{Na}^+$ -áram révén jön létre (35). Nyúlsejteken, szimulált iszkémia modellben végzett kísérletek során azt találták (36), hogy az iszkémia-indukált bradycardiában az  $I_f$ ,  $I_{Kr}$  és  $I_{CaL}$ -áramok amplitúdója és kinetikája nem változik, ugyanakkor az  $I_{CaT}$  és az  $I_{NCX}$  amplitúdója csökken. Később eredményeiket *Maltsev és Lakatta* úgy magyarázta, hogy az iszkémia-indukált bradycardia fő előidézője a befelé irányuló NCX-áram csökkenése, ami támogatja a korábbi  $\text{Ca}^{2+}$  pacemaker szerepéről alkotott hipotézist (37). Ebben a közleményben került bevezetésre a „ $\text{Ca}^{2+}$ -óra” hipotézis, amelynek lényege, hogy a SAN-sejtekben, az  $I_{CaL}$ -indukált  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulás előtt (a diasztolés fázisban), kis amplitúdójú, szinkronizált, periodikus, előzetes membránpotenciál-változást nem igénylő  $\text{Ca}^{2+}$ -felszabadulások történnek (LCR). A  $\text{Ca}^{2+}$ -ionok az NCX forward ak-

tívítása következtében eltávolításra kerülnek, így járulva hozzá a DD-depolarizáció késői, nonlinearis szakaszához. A  $Ca^{2+}$ -óra frekvenciáját az LCR-periódus hossza határozza meg, amely mindig valamivel rövidebb, mint maga a ciklushossz. A  $Ca^{2+}$ -óra frekvenciája változó, elsősorban az SR  $Ca^{2+}$  telítettsége szabályozza, amelyet viszont a SERCA és RyR foszforiláltsága határoz meg. A  $Ca^{2+}$ -óra szoros kapcsolatban van mind az NCX-szel, amely befelé irányuló áramot generál, mind az  $I_{CaL}$ -l, amely a CICR révén kiüríti az SR-t, így az adott ciklusban kialakult LCR-periódus véget ér („reset”), azaz az elmélet szerint a pacemaker-mechanizmusban az NCX alapvető fontosságú, viszont az  $I_K$  és  $I_f$  kizárólag a maximális DD-depolarizáció kialakításáért, és a spontán DD-depolarizáció inicializálásáért felelős. Az  $I_f$  automáciában játszott minimális szerepét áramfeszültség karakterisztikájával (kis áram a SAN DD-depolarizáció tartományában), aktivációs kinetikájával (túl lassú), és a gátlása után ( $CsCl_2$ , ivabradin) mért csekély mértékű bradycardiával magyarázzák (22, 29, 37, 38).

A számos felsorakoztatott kísérleti eredményt követően a *Difrancesco csoport* egyre kevésbé vitatta, hogy a  $Ca^{2+}$ -ciklus normál körülmények között hozzájárulhat a frekvenciaszabályozáshoz, inkább (39) azt vizsgálta, hogy a két „konkurens” mechanizmus közül melyik lehet alapvetően felelős az „effektor” mechanizmus az autonóm szabályzás frekvenciamodulációjáért. Kísérleteik alapján arra következtetésre jutottak, hogy közepes dóziszú  $\beta$ -adrenerg, illetve muszkarin-receptor-modulátorok alkalmazása esetén a frekvenciaszabályzás elsődleges effektora az  $I_f$ -áram. Ugyanakkor nagyobb dózisoknál nem zárható ki a  $Ca^{2+}$ -ciklus szerepe, továbbá megjegyzi, hogy a DD-meredekségének elsődleges szabályzója az  $I_f$ , a  $Ca^{2+}$ -ciklus változásai leginkább a DD utáni eseményeket befolyásolják.

### Közeledő álláspontok: a „kapcsolt-óra hipotézis”

Az egyre bővülő kísérleti adathalmaz egyaránt támogatja az  $I_f$ -hipotézist és a  $Ca^{2+}$ -óra hipotézist is, ezáltal egyik fél sem tudta a másik fél által javasolt mechanizmus jelentőségét cáfolni (40). Az ingerképzés komplex voltát mindkét mechanizmus képviselője elismeri, azonban a domináns szerepet illetően továbbra is heves vita folyt. 2010-ben *Lakatta és Maltsev* (41) egy új, numerikus modellt dolgozott ki, amelynek a „kapcsolt-óra” hipotézist adták. Az új matematikai modell az automáciát már egy komplex mechanizmusként írja le, amelyben a transzszarkolemmális áramok („membrán-óra”) és a  $Ca^{2+}$ -óra egymással összhangban, csatoltan működnek.

A paradigmaváltást az is előmozdította, hogy 2011-ben a  $Ca^{2+}$ -óra mint önálló pacemaker-mechanizmus hitelessége súlyosan megkérdőjeleződött. *Himeno és munkatársai* (42) egy rendkívül meggyőző bizonyíték-

kal álltak elő az  $I_f$ -hipotézis mellett.  $Ca^{2+}$ -kelátort tartalmazó patch-clamp elektróddal perforált patch módban regisztráltak AP-t tengerimalac SAN-sejtekből. Ezt követően a sejtmembránt átszakítva pufferelték az intracelluláris tér  $Ca^{2+}$ -terét, amelynek hatására a kontrakció megszűnt, ugyanakkor az AP-aktivitás megmaradt, mindössze az AP időtartama és a frekvencia nőtt kismértékben. Egy másik munkában HCN4-gén kiűtött egérmódellet vizsgáltak, ahol a kontrollhoz képest több mint 50%-os bradycardiát találtak (43). Végül, egy Cav1.3 gén kiűtött egérmódelletben azt találták, hogy az LCR-frekvencia több mint 70%-kal lecsökkent a vad típushoz viszonyítva. Ez a három eredmény az alábbi következtetésekhez vezetett:

- a  $Ca^{2+}$ -óra mechanizmus nem lehet az automácia elsődleges meghatározója,
  - a  $Ca^{2+}$ -óra mechanizmus nem magyarázza *Himeno és munkatársai* eredményét, míg a transzmembrán ionáramok ( $I_{CaL}$ ,  $I_{CaT}$ ,  $I_f$ , háttéráramok) kooperációja lévén létrejövő mechanizmus („membrán-óra hipotézis”) igen,
  - az  $I_f$ -áram specifikus pacemaker-szabályzó szerepet rendelkezik, valamint
  - az LCR nem spontán folyamat, hanem a Cav1.3 csatorna révén kialakuló feszültségfüggő mechanizmus. *Lakatta és munkatársai a Himeno és munkatársai* által közölt eredményeket elsősorban az alkalmazott metódika során fellépő problémákkal magyarázták (44).
- Habár továbbra sem teljes az egyetértés, és vannak kérdéses pontok, úgy tűnik, a *Maltsev–Lakatta*-féle kapcsolt-óra mechanizmus legújabb verzióját a *Difrancesco csoport* is hajlandó elfogadni. A jelenleg regnáló kapcsolt-óra hipotézis, amely mai tudásunk szerint magyarázatot ad az SA-csomó pacemaker-mechanizmusára, az alábbi tulajdonságokkal jellemezhető:
- a membrán ioncsatornái (membrán-óra) és az SR  $Ca^{2+}$ -felszabadulás (LCR,  $Ca^{2+}$ -óra) rendkívül komplex összhangban működik: az LCR-eket nemcsak az SR  $Ca^{2+}$ -tartalma szabályozza, hanem a membrán ioncsatornáinak foszforiláltsági állapota is. A két óra között reciprok kapcsolat van.
  - A két folyamat közül egyik sem domináns, egymást kiegészítve hozzák létre a DD-t. Az  $I_f$ -áram gátlása ivabradinnal csökkenti az SR  $Ca^{2+}$ -tartalmát, így következményesen gyengül az NCX-áram is (45).
  - Az aktuális ciklushosszt a két óra közötti szinkronizáció mértéke határozza meg: szorosabb csatolás rövidebb ciklushosszt és nagyobb frekvenciát eredményez, és versa vice (46).
  - A szinkronizáció mértéke befolyásolja az AP-variabilitást is (47).
  - A  $\beta$ -adrenerg moduláció G-protein-AC-PKA-CamKII kaskádon keresztül foszforilálja mindkét óra fehérjét, így fokozza a kapcsolt-óra mechanizmus hatékonyságát (48).
  - A két óra csatolásának mértéke ütésről-ütésre változhat, amennyiben az egyik óra mechanizmusában zavar keletkezik (49, 50, 46).

- A kapcsolt-óra mechanizmust jelenleg legjobban leíró modell a módosított *Maltsev–Lakatta*-modell (50), amely kielégítően magyarázza az összes kísérletes eredményt.

Fontos azonban megjegyezni, hogy úgy tűnik, hogy az SA-csomó spontán működése nem állítható le még nagy dózisú ivabradinnal, illetve rianodinnal sem (45). Ez az eredmény azt sugallja, hogy habár mind az  $I_f$  mind az NCX fontos szerepet játszik az aktuális frekvencia meghatározásában, a háttér depolarizáló áramok, és a repolarizáló  $K^+$ -áramok szerepe szintén jelentős a spontán ingerképzés kialakulásában (51).

## Következtetések

Az ingerképzés mechanizmusának problémája közel 20 éves vita után megoldódni látszik, és a szerzők inkább annak kóros működése felé fordultak. A végső (?) következtetés tehát az lehet, hogy sem a membrán-óra, sem a  $Ca^{2+}$ -óra nem domináns a másik felett, hanem egymást kiegészítve, kapcsoltan működnek. Ezek alapján az ingerképzés egy jelentősen túlbiztosított folyamatnak tűnik, ami nem egyedülálló az élővilágban. A szív repolarizációs folyamata, a stabil nyugalmi membránpotenciál fenntartása, a pozitív inotrópia kialakulása stb., szintén multifaktoriális folyamatok, több mechanizmus összehangolt működésének eredményei. Ez a „túlbiztosítás” a SA-csomó esetében az élet zálogának tekinthető, hiszen az ingerképzés akár csak néhány másodpercre történő felfüggesztése is nagyon súlyos, akár halálos következményekkel járhat.

A fent vázolt eredmények azonban közel sem jelentik azt, hogy mindent ismerünk a spontán automáciával kapcsolatban. A szelektív gátlószerek hiánya, illetve a folyamat magas fokú komplexitása miatt továbbra sem tekinthető tisztázottnak a régi kérdés, hogy milyen mértékű az egyes mechanizmusok szerepe a teljes folyamaton belül, és mennyire képesek valamely részfolyamat kiesését kompenzálni. Továbbá válaszra vár az a kérdés is, hogy az egyes SA-funkciót deprimáló folyamatok (pl. szívelégtelenség) hogyan változtatják meg ezt a bonyolult folyamatot. Ezekben a kérdésekben, de talán még a normálfunkciót illetően is, további hosszú és érdekes vitákra számíthatunk.

## Köszönetnyilvánítás

Jelen munkát a *Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH K-119992, K-115397, NN-109904, ANN-113273, GINOP-2.3.2-15-2016-00006, GINOP-2.3.2-15-2016-00012, and GINOP-2.3.2-15-2016-040), valamint a LIVE LONGER EFOP-3.6.2-16-2017-00006 támogatja.*

## Irodalom

1. Weidmann S. Effect of current flow on the membrane potential of cardiac muscle. *J Physiol* 1951; 115: 227–36. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1951.sp004667>

- Barbuti A, DiFrancesco D. Control of cardiac rate by “funny” channels in health and disease. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1123: 213–23. <https://doi.org/10.1196/annals.1420.024>
- Carmeliet EE Chloride ions and the membrane potential of Purkinje fibres. *J Physiol* 1961; 156: 375–88. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1961.sp006682>
- Hall AE, Hutter OF, Noble D. Current-voltage relations of Purkinje fibres in sodium-deficient solutions. *J Physiol* 1963; 166:225–40. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1963.sp007102>
- Vassalle M. Analysis of cardiac pacemaker potential using a “voltage clamp” technique. *Am J Physiol* 1966; 210: 1335–41.
- Noble D. A modification of the Hodgkin–Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pace-maker potentials. *J Physiol* 1962; 160: 317–52. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1962.sp006849>
- Noble D, Tsien RW. The kinetics and rectifier properties of the slow potassium current in cardiac Purkinje fibres. *J Physiol* 1968; 195: 185–214. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1968.sp008454>
- Hauswirth O, Noble D, Tsien RW. Adrenaline: mechanism of action on the pacemaker potential in cardiac Purkinje fibers. *Science* 1968; 162: 916–7. <https://doi.org/10.1126/science.162.3856.916>
- Brown HF, DiFrancesco D, Noble SJ. How does adrenaline accelerate the heart? *Nature* 1979; 280: 235–6. <https://doi.org/10.1038/280235a0>
- DiFrancesco D, Ferroni A, Mazzanti M, et al. Properties of the hyperpolarizing-activated current ( $I_f$ ) in cells isolated from the rabbit sino-atrial node. *J Physiol* 1986; 377: 61–88. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1986.sp016177>
- DiFrancesco D. Characterization of single pacemaker channels in cardiac sino-atrial node cells. *Nature* 1986; 324: 470–3. <https://doi.org/10.1038/324470a0>
- DiFrancesco D, Ojeda C. Properties of the current  $I_f$  in the sino-atrial node of the rabbit compared with those of the current  $i_K$ , in Purkinje fibres. *J Physiol* 1980; 308:353–67. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1980.sp013475>
- DiFrancesco D A new interpretation of the pace-maker current in calf Purkinje fibres. *J Physiol* 1981; 314:359–76. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1981.sp013713>
- Callewaert G, Carmeliet E, Vereecke J Single cardiac Purkinje cells: general electrophysiology and voltage-clamp analysis of the pace-maker current. *J Physiol* 1984; 349: 643–61. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1984.sp015179>
- DiFrancesco D. Block and activation of the pace-maker channel in calf purkinje fibres: effects of potassium, caesium and rubidium. *J Physiol* 1982; 329: 485–507. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1982.sp014315>
- DiFrancesco D, Tromba C. Inhibition of the hyperpolarization-activated current ( $I_h$ ) induced by acetylcholine in rabbit sino-atrial node myocytes. *J Physiol* 1988; 405: 477–91. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1988.sp017343>
- DiFrancesco D, Tromba C. Muscarinic control of the hyperpolarization-activated current ( $I_h$ ) in rabbit sino-atrial node myocytes. *J Physiol* 1988; 405: 493–510. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1988.sp017344>
- Noma A, Morad M, Irisawa H. Does the “pacemaker current” generate the diastolic depolarization in the rabbit SA node cells? *Pflügers Arch* 1983; 397: 190–4. <https://doi.org/10.1007/BF00584356>
- Sakmann B, Noma A, Trautwein W. Acetylcholine activation of single muscarinic  $K^+$  channels in isolated pacemaker cells of the mammalian heart. *Nature* 1983; 303: 250–3. <https://doi.org/10.1038/303250a0>
- DiFrancesco D, Ducouret P, Robinson RB. Muscarinic modulation of cardiac rate at low acetylcholine concentrations. *Science* 1989; 243: 669–71. <https://doi.org/10.1126/science.2916119>
- Zhou Z, Lipsius SL. Properties of the pacemaker current ( $I_f$ ) in

- latent pacemaker cells isolated from cat right atrium. *J Physiol* 1992; 453: 503–23. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1992.sp019242>
22. Hassalle M The pacemaker current (I<sub>f</sub>) does not play an important role in regulating SA node pacemaker activity. *Cardiovasc Res* 1995; 30: 309–10.
23. Rigg L, Terrar DA. Possible role of calcium release from the sarcoplasmic reticulum in pacemaking in guinea-pig sino-atrial node. *Exp Physiol* 1996; 81: 877–80. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1996.sp003983>
24. Hussain M, Orchard CH. Sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> content, L-type Ca<sup>2+</sup> current and the Ca<sup>2+</sup> transient in rat myocytes during beta-adrenergic stimulation. *J Physiol* 1997; 505(Pt 2): 385–402. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1997.385bb.x>
25. Ju YK, Allen DG. Intracellular calcium and Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchange current in isolated toad pacemaker cells. *J Physiol* 1998; 508 (Pt 1): 153–66. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1998.153br.x>
26. Janvier NC, Boyett MR. The role of Na-Ca exchange current in the cardiac action potential. *Cardiovasc Res* 1996; 32: 69–84. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(96\)00017-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(96)00017-X)
27. Ju YK, Allen DG. How does beta-adrenergic stimulation increase the heart rate? The role of intracellular Ca<sup>2+</sup> release in amphibian pacemaker cells. *J Physiol* 1999; 516 (Pt 3): 793–804. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.0793u.x>
28. Bogdanov KY, Vinogradova TM, Lakatta EG. Sinoatrial nodal cell ryanodine receptor and Na(+)-Ca(2+) exchanger: molecular partners in pacemaker regulation. *Circ Res* 2001; 88: 1254–8. <https://doi.org/10.1161/hh1201.092095>
29. Vinogradova TM, Bogdanov KY, Lakatta EG. beta-Adrenergic stimulation modulates ryanodine receptor Ca(2+) release during diastolic depolarization to accelerate pacemaker activity in rabbit sinoatrial nodal cells. *Circ Res* 2002; 90: 73–9. <https://doi.org/10.1161/hh0102.102271>
30. Accili EA, Proenza C, Baruscotti M, et al. From funny current to HCN channels: 20 years of excitement. *News Physiol Sci* 2002; 17: 32–7.
31. DiFrancesco D, Robinson RB. Beta-modulation of pacemaker rate: novel mechanism or novel mechanics of an old one? *Circ Res* 2002; 90: E69–9. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000014803.05780.E7>
32. Vinogradova TM, Bogdanov KY, Lakatta EG. Novel perspectives on the beating rate of the heart. *Circ Res* 2002; 91: e3. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000031164.28289.55>
33. Bucchi A, Baruscotti M, Robinson RB, et al. I<sub>f</sub>-dependent modulation of pacemaker rate mediated by cAMP in the presence of ryanodine in rabbit sino-atrial node cells. *J Mol Cell Cardiol* 2003; 35: 905–13. [https://doi.org/10.1016/S0022-2828\(03\)00150-0](https://doi.org/10.1016/S0022-2828(03)00150-0)
34. Vinogradova TM, Zhou YY, Maltsev V, et al. Rhythmic ryanodine receptor Ca<sup>2+</sup> releases during diastolic depolarization of sinoatrial pacemaker cells do not require membrane depolarization. *Circ Res* 2004; 94: 802–9. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000122045.55331.0F>
35. Bogdanov KY, Maltsev VA, Vinogradova TM, et al. Membrane potential fluctuations resulting from submembrane Ca<sup>2+</sup> releases in rabbit sinoatrial nodal cells impart an exponential phase to the late diastolic depolarization that controls their chronotropic state. *Circ Res* 2006; 99: 979–87. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000247933.66532.0b>
36. Du YM, Nathan RD. Ionic basis of ischemia-induced bradycardia in the rabbit sinoatrial node. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 42: 315–25. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.10.004>
37. Maltsev VA, Lakatta EG. Cardiac pacemaker cell failure with preserved I<sub>f</sub>, I(CaL), and I(Kr): a lesson about pacemaker function learned from ischemia-induced bradycardia. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 42: 289–94. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.11.009>
38. Lakatta EG, Maltsev VA, Bogdanov KY, et al. Cyclic variation of intracellular calcium: a critical factor for cardiac pacemaker cell dominance. *Circ Res* 2003; 92: e45–50. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000055920.64384.FB>
39. Bucchi A, Baruscotti M, Robinson RB, et al. Modulation of rate by autonomic agonists in SAN cells involves changes in diastolic depolarization and the pacemaker current. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 43: 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2007.04.017>
40. Lakatta EG, DiFrancesco D. What keeps us ticking: a funny current, a calcium clock, or both? *J Mol Cell Cardiol* 2009; 47: 157–70. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.03.022>
41. Maltsev VA, Lakatta EG. Synergism of coupled subsarcolemmal Ca<sup>2+</sup> clocks and sarcolemmal voltage clocks confers robust and flexible pacemaker function in a novel pacemaker cell model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 296: H594–615. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01118.2008>
42. Himeno Y, Toyoda F, Satoh H, et al. Minor contribution of cytosolic Ca<sup>2+</sup> transients to the pacemaker rhythm in guinea pig sinoatrial node cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 300: H251–61. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00764.2010>
43. Baruscotti M, Bucchi A, Viscomi C, et al. Deep bradycardia and heart block caused by inducible cardiac-specific knockout of the pacemaker channel gene Hcn4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 1705–10. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010122108>
44. Maltsev VA, Vinogradova TM, Stern MD, et al. Letter to the editor: “Validating the requirement for beat-to-beat coupling of the Ca<sup>2+</sup> clock and M clock in pacemaker cell normal automaticity”. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 300:H2323–4; author reply H2325–6. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00110.2011>
45. Yaniv Y, Sirenko S, Ziman BD, et al. New evidence for coupled clock regulation of the normal automaticity of sinoatrial nodal pacemaker cells: bradycardic effects of ivabradine are linked to suppression of intracellular Ca(2)(+) cycling. *J Mol Cell Cardiol* 2013; 62: 80–9. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2013.04.026>
46. Monfredi O, Maltseva LA, Spurgeon HA, et al. Beat-to-Beat Variation in Periodicity of Local Calcium Releases Contributes to Intrinsic Variations of Spontaneous Cycle Length in Isolated Single Sinoatrial Node Cells. *PLoS One* 2013; 8: e67247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067247>
47. Yaniv Y, Lyashkov AE, Sirenko S, et al. Stochasticity intrinsic to coupled-clock mechanisms underlies beat-to-beat variability of spontaneous action potential firing in sinoatrial node pacemaker cells. *J Mol Cell Cardiol* 2014; 77: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.09.008>
48. Yaniv Y, Ahmet I, Liu J, et al. Synchronization of sinoatrial node pacemaker cell clocks and its autonomic modulation impart complexity to heart beating intervals. *Heart Rhythm* 2014; 11: 1210–9. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2014.03.049>
49. Yaniv Y, Maltsev VA, Escobar AL, et al. Beat-to-beat Ca(2+)-dependent regulation of sinoatrial nodal pacemaker cell rate and rhythm. *J Mol Cell Cardiol* 2011; 51: 902–5. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2011.08.029>
50. Yaniv Y, Stern MD, Lakatta EG, et al. Mechanisms of beat-to-beat regulation of cardiac pacemaker cell function by Ca(2)(+) cycling dynamics. *Biophys J* 2013; 105: 1551–61. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.08.024>
51. Lengyel C, Varró A, Tábóri K, et al. Combined pharmacological block of I(Kr) and I(Ks) increases short-term QT interval variability and provokes torsades de pointes. *Br J Pharmacol* 2007; 151: 941–51.