

# Repolarizáló káliumáramok tulajdonságainak vizsgálata sinusritmusú és pitvarfibrilláló kutyákból izolált pitvari szívműsejteken

Kohajda Zsófia<sup>1</sup>, Kristóf Attila<sup>1</sup>, Horváth András<sup>2</sup>, Juhász Viktor<sup>2</sup>, Sággy László<sup>3</sup>, Virág László<sup>2</sup>, Baczkó István<sup>2</sup>, Fazekas Tamás<sup>4</sup>, Varró András<sup>1,2</sup>, Jost Norbert<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>SZTE, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szeged

<sup>3</sup>SZTE, Általános Orvostudományi Kar, II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ, Szeged

<sup>4</sup>SZTE, Általános Orvostudományi Kar, I.sz. Belgyógyászati Klinika, Szeged

Levelezési cím: Dr. Jost Norbert, tudományos főmunkatárs, SZTE ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet  
6701 Szeged, Dóm tér 12, Pf.: 427. E-mail: jost.norbert@med.u-szeged.hu

**Célkitűzés:** A vizsgálat célja a pitvari repolarizációt meghatározó és a pitvarfibrillációt (PF) kísérő elektromos átépülésben szerepet játszó kálium-ionáramok ( $I_{to}$  – tranziens kifelé haladó kálium;  $I_{K1}$  – befelé egyenirányító kálium és  $I_{K,ACH}$  – acetilkolin szenzitív káliumáram) vizsgálata volt sinusritmusú (SR) és krónikus gyors (400/perc) pitvari elektromos ingerléssel kiváltott PF-ben lévő kutyákból izolált pitvari szívműsejteken.

**Módszerek:** A kutyákon a pitvari remodellinget és PF-t krónikus (4-6 hét) gyors (400/perc) pitvari elektrostimulációval váltottuk ki. Az ionáramokat a patch clamp technika egész sejt konfigurációjában mértük jobb pitvari szívműsejteken 37 °C-on.

**Eredmények:** A PF-ben szenvedő kutyákból izolált cardiomyocytákban az  $I_{to}$  kis mértékben gyengült (downregulálódott). Az  $I_{K1}$  hasonló mértékű volt a PF és az SR sejteken. A pitvarspecifikus  $I_{K,ACH}$  ionáram aktiválásához carbacholt (CCh) alkalmaztunk. Az „SR-sejtekben” aktivált outward áramot 10 nM tertapiin, az  $I_{K,ACH}$  szelektív gátlószere, 61%-ban csökkentette. A „PF-sejtekben”, minden előzetes aktiváció nélkül, jelentős, konstitutívan aktív  $I_{K,ACH}$  áramot mértünk, amelyet a tertapiin 59%-ban gátolt. Ha a „PF-sejteket” carbachollal kezeltük, bennük a konstitutív  $I_{K,ACH}$  ionáramon kívül szignifikáns ligand-függő és szintén tertapiin szenzitív  $I_{K,ACH}$  ionáram jelent meg.

**Következtetések:** A konstitutív  $I_{K,ACH}$  megjelenése is igazolja, hogy az általunk alkalmazott PF-kutyamodellben a pitvari elektromos remodelling egyértelműen kialakult. A ligandfüggő és konstitutívan aktív  $I_{K,ACH}$  együttesen fontos szerepet játszik kutyában a PF-t kísérő elektromos átépülés kialakításában, így ígéretes antiaritmiás gyógyszerfejlesztési célpontra lehet.

**Kulcsszavak:** pitvarfibrilláció, pitvari remodelling, szívelektrofiziológia, acetilkolin szenzitív káliumáram

## Properties of several repolarizing potassium currents in atrial cardiomyocytes isolated from dogs in sinus rhythm and atrial fibrillation

**Aims:** The aim of the present study was to investigate the properties of three repolarizing potassium currents which contribute to atrial fibrillation (AF) – induced electrical remodeling, i.e. the transient outward ( $I_{to}$ ), inward rectifier ( $I_{K1}$ ) and acetylcholine-sensitive ( $I_{K,ACH}$ ) potassium currents in isolated atrial myocytes obtained from dogs either with sinus rhythm (SR) or following chronic atrial tachypacing (400/min) AF-dogs.

**Methods:** Atrial remodeling and AF were induced by chronic (4-6 weeks of) right atrial tachypacing (400/min) in dogs. Transmembrane ionic currents were measured by applying the whole-cell patch clamp technique at 37°C.

**Results:** The  $I_{to}$  current was slightly downregulated in AF cells when compared with that recorded in SR cells.  $I_{K1}$  current was not statistically significant different in AF and SR cells.  $I_{K,ACH}$  was activated by carbachol (CCh; 2 μM). In SR, CCh activated a large current either in inward or outward directions. The selective  $I_{K,ACH}$  inhibitor tertapiin (10 nM) blocked the outward CCh-induced current by 61%. In atrial myocytes isolated from dogs with AF, the presence of a constitutively active  $I_{K,ACH}$  was observed, blocked by 59% with 10 nM tertapiin. However, in 'AF atrial myocytes', CCh activated an additional, significant ligand-dependent and tertapiin-sensitive  $I_{K,ACH}$  current.

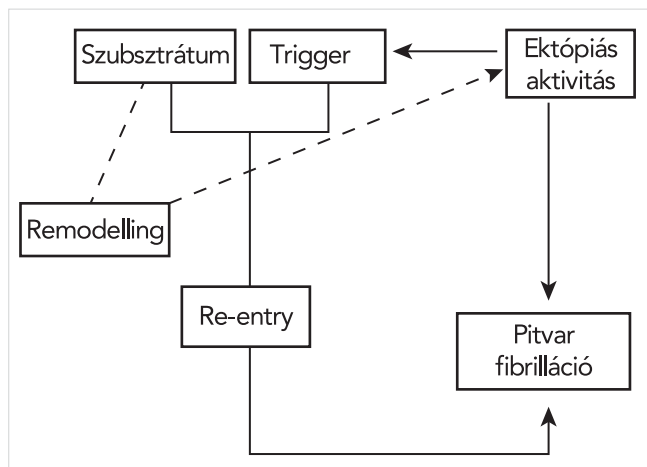
**Conclusions:** The presence of the constitutively active  $I_{K,ACH}$  in atrial myocytes from AF dogs shows that electrical remodeling truly developed in this model. The  $I_{K,ACH}$  current (both ligand-dependent and constitutively active) seems to play a significant role in canine atrial electrical remodeling, and may be a promising atrial selective drug target for suppressing AF.

**Keywords:** atrial fibrillation, atrial remodeling, cardiac electrophysiology, acetylcholine sensitive potassium current

## Bevezetés

A pitvarfibrilláció (PF) a leggyakrabban előforduló krónikus/visszatérő ritmuszavar a klinikai gyakorlatban. PF-ben a fiziológias körülmények (SR) között koordinált pitvari tevékenység helyett teljesen rendezetlen, kaotikus, óriási frekvenciájú (cca. 600-800/min) gyors excitáció jellemzi a pitvarok elektromos működését, amelyek lényegében véve vonaglanak, érdemi mechanikai tevékenységre (összehúzódásra és ellazulásra) képtelenek. Paroxizmális PF-ben a rendszertelenül és nemritkán (10-40%) panaszmentes formában jelentkező epizódok/attakok 7 napon belül spontánul megszűnnek, de ha a PF perzisztenssé válik, gyógyszeres terápia vagy elektromos kardioverzió szükséges a SR helyreállítására. Az SR visszaállítását célzó gyógyszeres, elektromos vagy „hibrid (gyógyszer pl. prokainamid vagy ibutilid injektálása után végzett elektrosokk) beavatkozás nem mindig sikeres, és köztudott, hogy annál kisebb a valószínűsége, hogy a betegek SR-ben maradnak, minél hosszabb ideje fennáll(t) a kardioverzió előtt a PF. Ha az SR ezen beavatkozások ellenére sem áll helyre vagy kísérlet sem történik helyreállítására (mert pl. a beteg nem egyezik bele az altatás alatt végezhető elektrokardioverzióba), a ritmuszavar állandósul, s ilyenkor a permanens jelzővel illetjük (1). Kísérletes körülmények között rövidebb-hosszabb ideig fentartott gyors pitvari elektrostimulációval PF idézhető elő, amely önfenntartó folyamatként elősegíti (elsősorban nagyobb szívvel bíró állatfajokban) saját fennmaradását. Ezt a jelenséget nevezték el *Allessie és munkatársai*, ma már klasszikusnak nevezhetően az *atrial fibrillation begets atrial fibrillation*, azaz „a pitvarfibrilláció pitvarfibrillációt szül” kifejezéssel (2).

A PF kórélettanának megismerése rendkívül sokat fejlődött az elmúlt 20 évben, amelynek során bekerült a köztudatba az atrialis remodeling, azaz a pitvari átépülés fogalma (3). Minden, a PF során előálló pitvari strukturális/szerkezeti, funkcionális/elektrofiziológiai és szignáltranszdukciós/biokémiai elváltozást összefoglalóan pitvari remodelingnek nevezünk. A pitvari remodelingnek számos (részben a kiváltó alapbetegségtől függő) formája/típusa van, mindemellett közös jellemzőjük, hogy elősegítik a PF kiújulását, perzisztenciáját, tartós (long-standing) perpetuációját vagy állandóságát. Lényegében véve, a PF is azokon a kamraizomzatban/szívizomsejteken is megfigyelhető, mindenkitől ismert szívritmuszavar-keltő/fenntartó mechanizmusokon alapul, melyeket az 1. ábra szemléltet (4). Pitvarfibrillációt egyaránt okozhat gyors pitvari ektópiás tevékenység/szoliter vagy repetitív extrasystolia vagy



1. ÁBRA. A pitvarfibrilláció kialakulásában és fennmaradásában szerepet játszó főbb tényezők ([4] alapján módosítva; engedéllyel)

ún. re-entry-aktivitás. A PF-et kiváltó, többnyire funkcionális (multiple wavelet)-re-entry iniciálásában és (gyakran a ritmuszavar tartós fennmaradásában is), a repetitív pitvari ektópiás aktivitásnak/extrasystoliának kulcsfontosságú szerepe van. Már utaltunk arra, hogy minél hosszabb ideje áll fenn a PF, annál kifejezettebb az atrio-endoimiokardiális és neurális (5, 6) remodeling, s több éve tartó permanens PF-ben az „átépülés” már oly mértékben a progrediál, hogy a pitvarüregek kitágulnak, a pivarizomfal pedig kötőszövet-szaporulat miatt egyre merevebb lesz (stiffnes; fibromiokardiális átalakulás). *Chen és munkatársai* nemcsak spontán kóros automáciára vagy triggerelt aktivitásra képes cardiomyocytákat találtak kutyák PV-szájadékaiban (a PV-ostiumokban) és a visszerekbe betüremkedő szívizomnyelvekben, hanem olyasféle re-entry-mechanizmust is, aminőt PF-ben szenvedő betegek PV-régióiban is kimutattak (7).

Mindent összevéve, a venoatrialis PF-et elindító extrasystolék (ES-k) patofiziológiai hátterében három aritmogén mechanizmus állhat:

- kóros automácia;
- re-entry;
- triggerelt aktivitás.

Utóbbi lehet a PV-szájadékokból kiinduló spontán ES (fokális PF), amelyet ún. késői (DAD=delayed after depolarization) és/vagy korai (EAD=early after depolarization) utódepolarizáció indukál.

A kialakult/már meglévő pitvari remodeling további komplex (e helyütt nem részletezett) elektrofiziológiai és patobiokémiai mechanizmusokon keresztül elősegíti a PF további fennmaradását megalapozó ektópi-

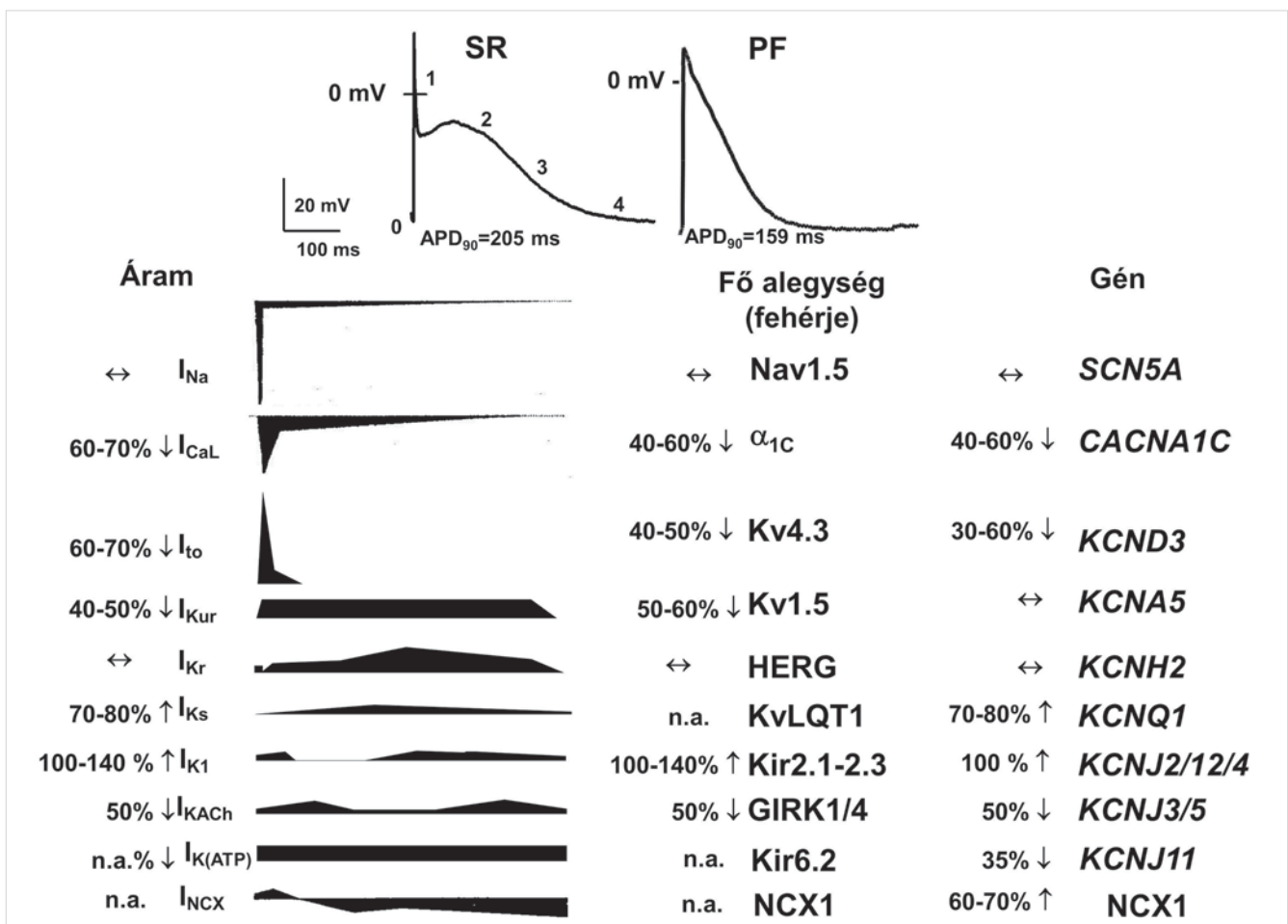
### Rövidítések jegyzéke

4-AP: 4-aminopyridin; Aflu: pitvarlebegés (atrial flutter); AP: akciós potenciál; APD: akciós potenciál időtartam; ATR: pitvari tachyarrhythmiától indukált remodeling (atrial tachycardia-induced remodeling); ASR: pitvari strukturális remodeling; AV: atrioventricularis; DAD: késői utódepolarizáció; EAD: korai utódepolarizáció; ERP: effektív refrakter periódus; ES: extrasystole; HP: holding potenciál;  $I_{K,ACH}$ : acetilkolin-függő káliumáram;  $I_{K1}$ : befelé egyenirányító káliumáram;  $I_{to}$ : tranziens kifelé haladó káliumáram; PF: pitvarfibrilláció; PSVT-K: paroxysmalis supraventricularis tachycardia; PV: pulmonalis véna; SR: sinusritmus

ás és/vagy re-entry aktivitást. Számos kórfolyamat/ betegség létezik, amely megváltoztatja a pitvarsejtek és a pitvari myocardium elektroanatómiai és elektrofiziológiai tulajdonságait, e dolgozatnak ezen kórformák számbavétele nem célja. Általában véve, állatkísérletes és klinikai vizsgálatok alapján a pitvari remodeling két alapformáját különböztetjük meg. Az egyik a pitvari tachycardiától/tachyarrhythmiától indukált típus, amely dominánsan elektromos remodeling (ATR=atrial tachycardia-induced remodeling), amelyet klinikai körülmények között tachyarrhythmiák (PF, pitvarlebegés=AFLu, PSVT-K=paroxizmális supraventricularis tachycardiák) váltanak ki; a másik a pangásos szívelégtelenséghez vagy a kamraizomzat kötőszövet-szaporulattal (fibrosissal) és telődésgátlással járó megbetegedéseikhez (mint amilyen pl. a hipertenzió) társuló pitvari strukturális remodeling (ASR=atrial structural remodeling). A két „remodelling-forma” éles disztinkciója magától értődően nagyon nehéz, hiszen az itt és később fölvezolt (elektro)patofiziológiai folyamatok kart karba öltve járnak.

Az a megfigyelés, hogy már a néhány hétig folyamatosan fennálló PF is képes gyökeresen megváltoztatni a pitvar elektrofiziológiai tulajdonságait és facilitálja a tachyarrhythmia fennmaradását és/vagy állandósulását, az *Allessie* vezette maastrichti munkacsoport „mértőldkö” elektropatológiai/elektrofiziológiai felfedezése volt (1, 2). Már céloztunk arra, hogy az ATR-rel indukált PF elsősorban elektromos remodelinget idéz elő (3). Jelenlegi ismereteink birtokában egyelőre nem tudjuk, hogy az ún. long-standing perzisztens és a permanens PF okozta „remodelling-formák” között milyen (mikro) elektrofiziológiai és hisztopatológiai hasonlóságok és különbségek vannak, de az nyilvánvaló, hogy az elektroanatómiai átépülés (sejtszintű és szubcelluláris) jellemzőit nagymértékben befolyásolja a szív-ér rendszeri alapbetegség (8). Ami biztos: az ATR rövidíti az APD-t (2. ábra) (4).

E jelenség hátterében elsősorban az L-típusú  $Ca^{2+}$ -áram ( $I_{CaL}$ ) downregulációja áll (9, 10), de fontos szerepe van az erősödő háttéráramként működő befelé egyenirányító  $K^+$ -áramnak ( $I_{K1}$ ) (11), valamint a permanens



**2. ÁBRA.** A pitvari akciós potenciált létrehozó kationáramok emberi pitvarsejtekben sinusritmusban (SR) és pitvarfibrillációban (PF); ez az ún. „ionsatorna-remodelling”. Az áramok intenzitásának százalékban kifejezett változása az ábra bal oldalán, az ionsatornákat alkotó fő fehérje-alegységeiké középen, a kódoló géneké az ábra jobb oldalán látható. A piktogramok az áramezősség akciós potenciál alatti időbeli változását szemléltetik (a méretarány hozzávetőleges figyelembevételével). n.a. = nincs irodalmi adat ([4] alapján módosítva; engedéllyel)

PF-ben konstitutívan aktív acetilkolin függő káliumáramnak ( $I_{K,ACH}$ ) (11, 12). Az ATR a  $Ca^{2+}$ -homeosztázis károsítása révén mindenkor rontja a pitvarok szisztolés/kontrakciós és diasztolés/relaxációs funkcióját (13). A pitvarüregtágulat tovább növeli a re-entry körök keletkezésének valószínűségét (nagyobb a rendelkezésre álló endomiokardiális „szívizomterület”, több szimultán funkcionális re-entry keletkezésének adottak a feltételei) és az újraingerlődés perpetuációját. Mindent összevéve, a patogenezisben a tág(uló) szívpitvarok túltelődése, a vérrögképződést elősegítő pangás (sztázis), a mechanoreceptorokat serkentő falfeszülés (stretch), a kamrák elégtelen (verő- és perctérfogatot csökkentő) telítődése és diasztolés diszfunkciója, a pitvarműködés irregularitására visszavezethető pitvar-kamrai (elektromos és mechanikai) aszinkronia és még sok más (monografikusan részletezhető) kórtani tényező játszik „interaktív” szerepet (4). Jelen dolgozat célja az „ioncsatornaszintű” remodelling jellemzése.

Az ATR-ben bekövetkező elektromos remodelling során jelentősen megváltozik számos transzmembrán ionáram tulajdonsága, konduktanciája. Ez magában foglalja a sejtmembrán biofizikai, kinetikai tulajdonságaiban bekövetkező eltéréseket, de megváltozhat a kationcsatornák/ionáramok antiaritmiás gyógyszerek iránti érzékenysége, ami akár azt is jelentheti, hogy a PF gyógyszer-rezisztenssé válik vagy éppen egy új, pitvarspecifikus (kizárólag a pitvarizomzatban jelenlévő ioncsatornára ható) ágenssel az eddigieknél hatásosabban megelőzhető és/vagy megszüntethető (3). Számos vizsgálat igazolta, hogy perzisztens PF-ban több  $Na^+$ - és  $K^+$ -csatorna gátló antiaritmiikum hatása, sinusritmust helyreállító képessége gyengül (15, 16, 17), ami azzal a régi klinikai megfigyeléssel is összhangban van, hogy minél korábban a PF diagnózisa, annál nagyobb a farmakológiai kardioverziónak a sikeraránya (15). Az eddig felvázoltak alapján az ATR potenciális antiaritmiás gyógyszer-célpont (pharmacological target) lehet. Ahhoz viszont, hogy új, az ATR megelőzésére és/vagy megszüntetésére alkalmas antiaritmiás gyógyszereket fejlesszünk ki, szükség van olyan állatkísérletes modellekre, amelyek alkalmasak az új gyógyszerjelöltek ATR-re kifejtett hatásának preklinikai elemzésére. Meglepő módon, a széleskörűen alkalmazott állatkísérletes modelleken (patkány, tengerimalac, nyúl, kutya, kecske) végzett munka során szerzett tapasztalatok és mérések jóvoltából pontosabban ismerjük a humán pitvari ionáramokat (mint a kamraiakat). Több olyan PF-modell létezik, amely alkalmas az ATR-re kifejtett (gyógyszer)hatás(ok) vizsgálatára, jellemzésére. Ezek lényege, hogy a kísérleti állatok (kutya, kecske) szívét viszonylag hosszú ideig nagy frekvenciával mesterségesen ingereljük.

Kísérleteink célja a pitvari repolarizációban és PF-ben előálló elektromos átépülésben (remodelling) szerepet játszó kálium-ionáramok ( $I_{to}$ -tranzienstől kifelé haladó kálium,  $I_{K1}$ -befelé egyenirányító kálium és  $I_{K,ACH}$ -acetilkolin

szenzitív káliumáram) tanulmányozása volt. Méréseinket SR-ben lévő és gyors pitvari ingerléssel kiváltott PF-ben szenvedő kutyákból izolált pitvari szívizomsejteken végeztük.

## Eszközök és módszerek

### Kísérleti állatok

A kísérleteket him, 12-13 kg tömegű Beagle kutyák szívéből izolált pitvari szívizomsejteken végeztük. Az experimentációt a Szegedi Tudományegyetem Munkahelyi Állatkísérletes Bizottsága (MÁB) és a Csongrád Megyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc Biztonsági és Állategészségügyi Igazgatósága engedélyezte (I-74-6/2012 MÁB ill. XIII/1211/2012 számokon).

### „Tachypacelt” PF kutyamodell

Kísérleteinket a korábbiakban leírt módszerek (14) szerint végeztük. Xylazin (indukció: 1 mg/ttkg iv., fenntartó adag 0,2 mg/ttkg iv. 20 percenként) és ketamin (indukció: 10 mg/ttkg iv., fenntartó dózis 2 mg/ttkg, iv. 20 percenként) anesztézia bevezetése után az állatok kétoldali szubkután zsebbe helyezett pacemaker-t (Logos, Karios; Biotronik Hungaria Kft.) helyeztünk, amelyeket a jobb kamrába és jobb pitvarba felvezetett, majd rögzített pacemaker-elektrodákhoz csatlakoztatunk. Az állatokon az atrioventricularis (AV) csomó rádióhullámú transzkatóderes ablációjával harmadfokú AV-blokkot hoztunk létre, hogy az elektromosan ingerelt pitvarok gyors (400/perc) elektromos működésének/impulzusainak kamrákra való „lefutását” megakadályozzuk. Az állatokon a kamrai pacemaker által vezérelt szívfrekvenciát az adott állaton műtét előtt mért normális/nyugalmi szívfrekvenciára állítottuk be ( $\pm 80$ -90/perc). A műtétet követő hetedik napon a jobb pitvari pacemakert, előzetes ERP-mérés után, bekapcsoltuk, majd 400/perc frekvenciával gyors jobb pitvari ingerlést kezdtünk az elektromos remodelling létrehozása céljából, amelyet korábbi vizsgálataink szerint a jobb pitvari ERP 80 ms-nál rövidebb időtartama jelzett. A tartós és gyors pitvari elektrostimuláció okozta elektromos remodelling dacára az SR-kutyában nem ritkán helyreáll; ilyenkor 800/perc frekvenciával 10 másodperces pitvari „burst” ingerléssel reindukáltuk a PF-et. A pacemaker-ek működésének szabályozása ICS 3000 Programmer (Biotronik Hungaria Kft.) segítségével történt.

### Jobb pitvari szívizomsejtek izolálása

A kutya jobb pitvari szívizomsejtjeinek izolálását enzimatikus úton végeztük. A kísérleti állatokat előzetes szedálás (xylazin, 1 mg/ttkg iv. és ketamin, 10 mg/ttkg iv.) után pentobarbitállal (Sigma-Aldrich, 30 mg/ttkg iv) (el)altattuk, majd a szívet jobb oldali laterális thoracotomia során gyorsan eltávolítottuk. Az állatok a szív kivétel előtt 400 NE/kg Na-heparint kaptak. A szíveket 4 °C hőmérsékletű fiziológiás tápoldatban átöblítettük. A jobb

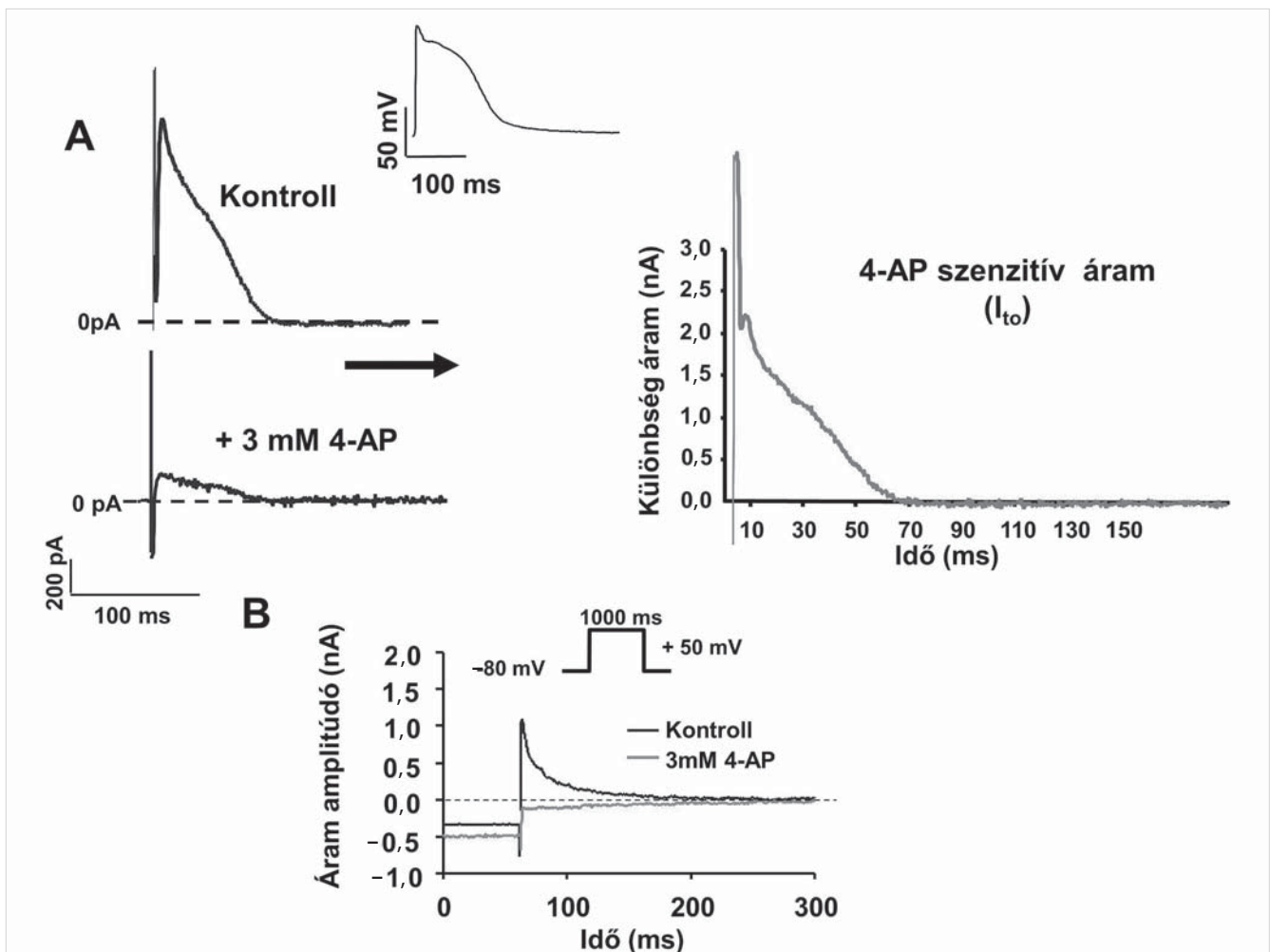
pitvar perfúzióját a jobb arteria coronariába vezetett branülön keresztül végeztük 60 cm magas Langendorff perfúziós berendezésen. A jobb pitvart a következő oldatokkal perfundáltuk: 1 mM  $\text{Ca}^{2+}$  és 1 ml heparint tartalmazó izolációs oldattal (5 percig),  $\text{Ca}^{2+}$ -mentes izolációs oldattal (10 percig),  $\text{Ca}^{2+}$ -mentes izolációs oldattal (40 percig), amelyhez kollagenázt (Clostridium histolyticum type I, 0,54 mg/ml Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA), 0,1% BSA-t (bovine serum albumin fraction V; Sigma Chemical), a 15. percben proteázt (type XIV, 0,05 mg/ml; Sigma Chemical) adtunk. Ezt követően a jobb pitvart levettük a berendezésről, apró darabokra vágtuk, és 1 mM  $\text{Ca}^{2+}$ , 1% BSA (bovine serum albumin fraction V; Sigma Chemical) tartalmú oldatba helyeztük (15 percig pihentettük 37 °C-on). A szövetdarabokat szuszpendáltuk és megkaptuk az egyedüli pitvari szívizomsejteket. Az egész izolációs eljárás alatt az oldatokat 100%  $\text{O}_2$ -vel buborékolattuk, a hőmérsékletet 37 °C-on tartottuk. A sejteket 10 percig ülepítettük, majd ezt követően eltávolítottuk a felülúszót és friss oldatot adtunk hozzá. Ezt a folyamatot 3 alkalommal

megismételtük. A sejteket mérésig szobahőmérsékleten állni hagytuk.

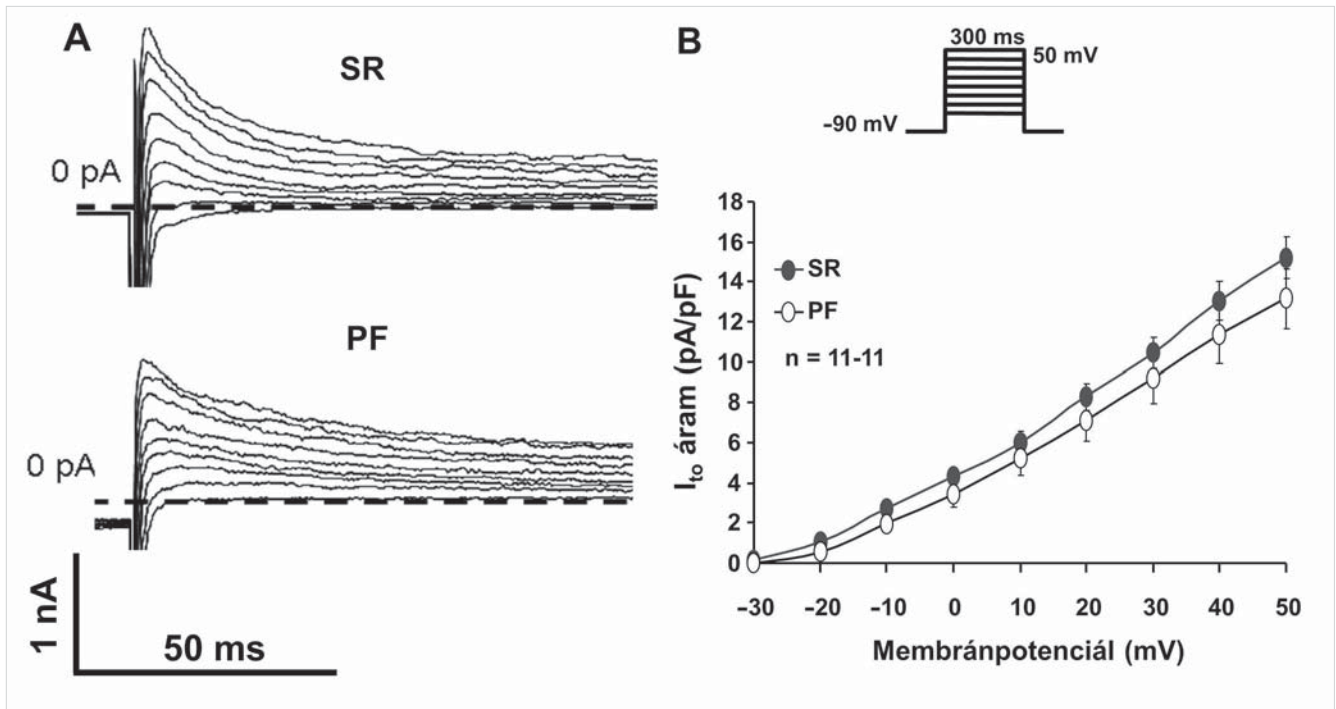
Az izoláció során alkalmazott oldat (mM/l): NaCl: 135 KCl: 4,7,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 1,2,  $\text{MgSO}_4$ : 1,2, HEPES: 10, glükóz: 10, taurin 20;  $\text{NaHCO}_3$  4,4; Na-piruvát; 5, pH 7,2 (NaOH-val beállítva).

#### Mérési eszközök, technikák

A sejteket Olympus IX51 típusú inverz mikroszkóp asztalához rögzített szervfürdőbe helyeztük, amit normális hőmérsékletű, 36-37 °C-os Tyrode oldattal (NaCl: 144 mM/l, KCl: 4,0 mM/l,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ : 0,4 mM/l,  $\text{MgSO}_4$ : 0,53 mM/l, HEPES: 5 mM/l, glükóz: 5,5 mM/l,  $\text{CaCl}_2$ : 1,8 mM/l; pH 7,4 NaOH-val beállítva) áramoltattunk át (3. ábra). A 2,0-2,5 M $\Omega$  ellenállású patch clamp mikropipettát a következő oldattal töltöttük fel (mM/l): K-aszpartát: 100 mM/l, KCl: 45 mM/l, MgATP: 3 mM/l,  $\text{MgCl}_2$ : 1 mM/l, EGTA: 10 mM/l, HEPES: 5 mM/l (pH: 7,2, KOH-al beállítva). A membránáramokat Axopatch 200B típusú patch clamp erősítővel (Molecular Devices; Union-City, USA), a patch clamp



**3. ÁBRA.** 3 mM 4-aminopyridin (4-AP) érzékeny transziens kifelé haladó káliumáram ( $I_{to}$ ) azonosítása akciós potenciálszerű (A-mező) és négyszögletű (B-mező) feszültség-impulzus alkalmazásával kutyából izolált jobb pitvari szívizomsejtekben. Az alkalmazott feszültség-protokollokat az ábrán piktogrammal jeleztük



**4. ÁBRA.** A-mező. Eredeti  $I_{to}$  áram-regisztrátumok sinusritmusban (SR) lévő és pitvarfibrilláló (PF) kutyákból izolált pitvari szívizomsejteken. Az áramot 0,33 Hz pulzusfrekvencia mellett négyzetöggel formájú, 300 ms időtartamú, -20 mV-tól 50 mV-ig terjedő depolarizáló feszültségimpulzusokkal aktiváltuk. B-mező.  $I_{to}$  áram-feszültség (I-V) karakterisztika SR-os és PF-es kutyákból izolált pitvarsejteken (n=11-11, p=ns)

technika egészsejtes (whole-cell) konfigurációjában mértük. A sejtek kapacitását 10 mV-os hiperpolarizáló pulzus segítségével, -90 mV holding potenciálról (az a potenciálérték, amelyen a sejtet két egymást követő feszültséglépcső után tartjuk) határoztuk meg. A mérések folyamán a 4-8 M $\Omega$ -os ellenállást 50-80%-ig kompenzáltuk. Azoknak a kísérleteknek az eredményeit, ahol a soros ellenállás a mérés folyamán jelentősen megemelkedett, kihagytuk az értékelésből. A membránáramokat 333 Hz-es szoftvervezérelt (Axon pClamp 10.3) analóg-digitális kártya (Digidata 1440, Molecular Devices) segítségével digitálisan mértük, és rögzítettük. Az áramméréseket ugyanazon szoftver segítségével (Axon pClamp 10.3) értékeltük. A kísérleteket fiziológias hőmérsékleten (37 °C) végeztük.

A mérések során a különböző áramokat szelektív gátlószerek segítségével azonosítottuk, illetve gátoltuk. Az alkalmazott gátlószerek:

1. Nisoldipin, 1  $\mu$ M –  $I_{Ca}$ -áram-blokkoló.
2. Dofetilid, 0,1  $\mu$ M –  $I_{Kr}$ -áram-blokkoló.
3. HMR 1556, 0,5  $\mu$ M –  $I_{Ks}$ -áram-blokkoló.
4. Tertiapin, 10 nM –  $I_{K_{ACH}}$ -áram-blokkoló.
5. 4-aminopyridin (4-AP) –  $I_{to}$ -áram-blokkoló.

#### Statisztika

Az adatok (átlag $\pm$ SEM) statisztikai elemzése egymin-tás Student t-próbával történt. A p-értéket akkor tekintettük szignifikánsnak, ha értéke kisebb volt, mint 0,05.

## Eredmények

### Tranziens kifelé haladó káliumáram ( $I_{to}$ )

A tranziens kifelé haladó káliumáramot két kísérletes protokoll segítségével is megvizsgáltuk. Először egy, az áram kinetikai paramétereit jobban modellező, ún. akciós potenciálszerű protokollal mértük. Az  $I_{to}$ -áramot magas koncentrációjú 4-aminopyridin (3 mM 4-AP) gátlószerevel azonosítottuk. Így az áramot a kontroll-körülmények (3. A ábra, bal felső mező) és a gátlószer után (3. A ábra bal alsó mező) regisztrált áramgörbék különbségeként (3. A ábra jobb oldali mező) határoztuk meg.

Az  $I_{to}$ -t a szokásos négyzetögpulzusokkal aktivált áramként is megvizsgáltuk. Ennek során az  $I_{to}$ -áramot 0,33 Hz pulzusfrekvencia mellett négyzetöggel formájú 300 ms időtartamú depolarizáló feszültségimpulzusokkal aktiváltuk, és a -20 mV-tól 50 mV-ig terjedő potenciáltartományt vizsgáltuk.

A holding potenciál (HP) -90 mV volt (3. B ábra és 4. A ábra, felső panel). A kontrollmérések során egy gyorsan aktiválódó és igen nagy amplitúdójú  $I_{to}$ -áramot (mintegy 14-15 pA/pF) regisztráltunk. Ezután 3 mM 4-aminopyridint adtunk az oldathoz. Azt tapasztaltuk, hogy a 3 mM 4-AP, az eddig publikált adatoknak megfelelően, teljes mértékben gátolta az  $I_{to}$ -áramot (3. B ábra). A kontroll és az anyag hatása utáni mérés különbségéből megkaptuk a 4-aminopyridin-érzékeny áramot. Ezután megvizsgáltuk az  $I_{to}$ -áramot pitvarfibrilláló (PF) kutyákból izolált pitvarsejteken is (4. A ábra). Megál-

lapítottuk, hogy az  $I_{to}$ -áram nagysága, ha kismértékben is, de csökkent („downregulálódott”). Ez a különbség nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak (4. A és 4. B ábrák).

Megvizsgáltuk az  $I_{to}$ -áram inaktivációját „SR- és „PF-sejteken” egyaránt. A pitvarsejtekben az  $I_{to}$ -áram kinetikája legjobban kétkomponensű (egy gyors és egy lassabb időállandójú), exponenciális függvényvel volt a legtokéletesebben illeszthető (5. ábra).

Kutya kamrai szívizomsejtjeiben jelen van egy rendkívül gyors (mintegy 10-12 ms időállandójú)  $I_{to}$ -komponens, viszont a pitvarsejtekben mért lassú(bb) kinetikájú időállandó (mintegy 120-150 ms) jelentősen lassúbb volt, mint amit korábban kutyaából izolált kamrai myocytákon mértünk (+20 mV-on mérve mintegy mintegy 20-30 ms) (18) ). A „PF-sejteken” is két exponenciális kinetikájú volt az  $I_{to}$ -áram inaktivációja viszont mind a gyors, mint a lassú kinetikájú komponens konstans szignifikáns mértékben lassult (5. ábra és 1. táblázat). Az illesztések eredményeit (amplitúdók és inaktivációs állandók) az 1. táblázat foglalja össze.

#### A befelé egyenirányító káliumáram ( $I_{K1}$ )

A befelé egyenirányító káliumáramot a rutinszerű mikroelektrofiziológiai vizsgálatokban megszokott módon vizsgáltuk. Az  $I_{K1}$ -áramot -90 mV holding potenciálról 0,33 Hz pulzusfrekvencia mellett 300 ms időtartamú depolarizáló négyszögimpulzusokkal aktiváltuk, és a pulzus végén nem inaktiválódó áramként ( $I_{ss}$ , ún. „ste-

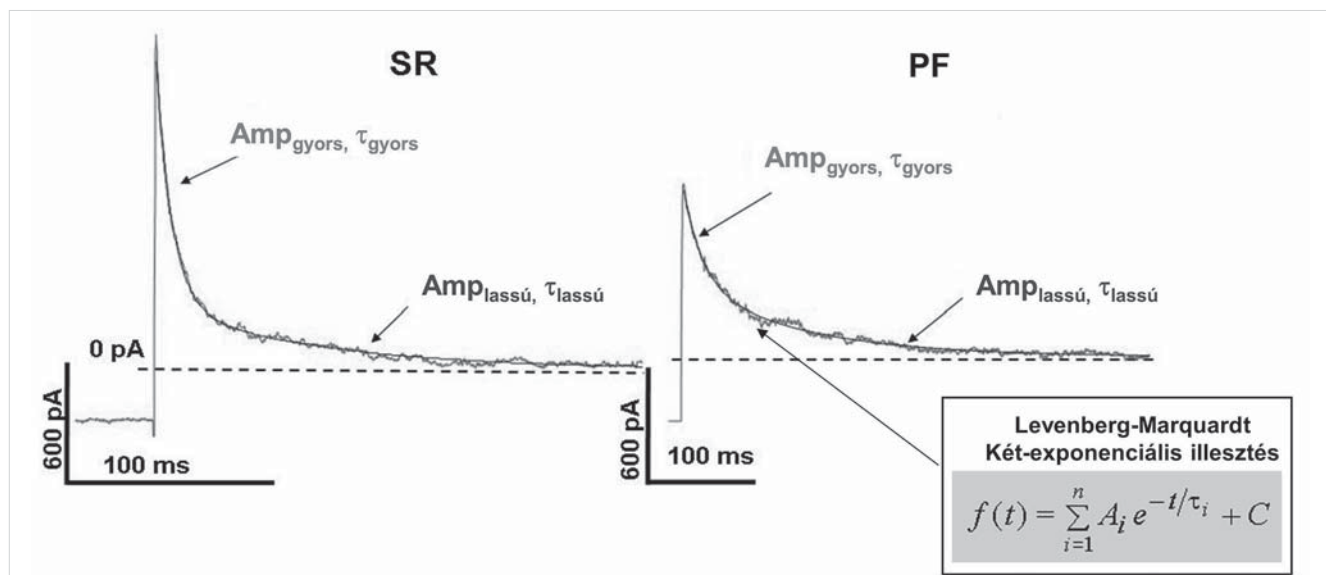
ady-state” áram) határoztuk meg (6. A ábra, szaggatott vonalakkal jelzett terület).

A 6. A ábrán is (bal oldali eredeti regisztrátum-felvételek), de a kísérleteket összesítő áramfeszültség karakterisztikákon (6. B ábra, felső panel) is jól látható, hogy a pitvari  $I_{K1}$ -áram „PF-kutyamodellünkben” erősödik („upregulálódik”), de a növekedés a pitvari akciós potenciált meghatározó feszültségtartományban (-80 mV és 20 mV között) nem különbözik statisztikailag szignifikánsan az „SR- és PF-”, cardiomyocytákban (6. ábra jobb alsó panel).

#### Az acetilkolin-függő káliumáram ( $I_{K,ACh}$ )

Az  $I_{K,ACh}$  káliumáram fiziológias körülmények között csak a bolygóideg stimulációja alatt aktív. Ezért az áramot a kolinerg agonista carbachol (2  $\mu$ M) segítségével aktiváltuk. Az áramot egy fűrészfog (ramp) feszültség-protokoll segítségével tanulmányoztuk. SR-sejtekben kolinerg aktiváció nélkül mind befelé (inward), mind kifelé haladó (outward) irányban viszonylag alacsony amplitúdójú áramot mértünk (7. ábra). Amennyiben a tápoldathoz hozzáadtunk 2  $\mu$ M carbacholt, az áram nagysága mind inward, mint az outward irányban jelentősen megnőtt (7. ábra).

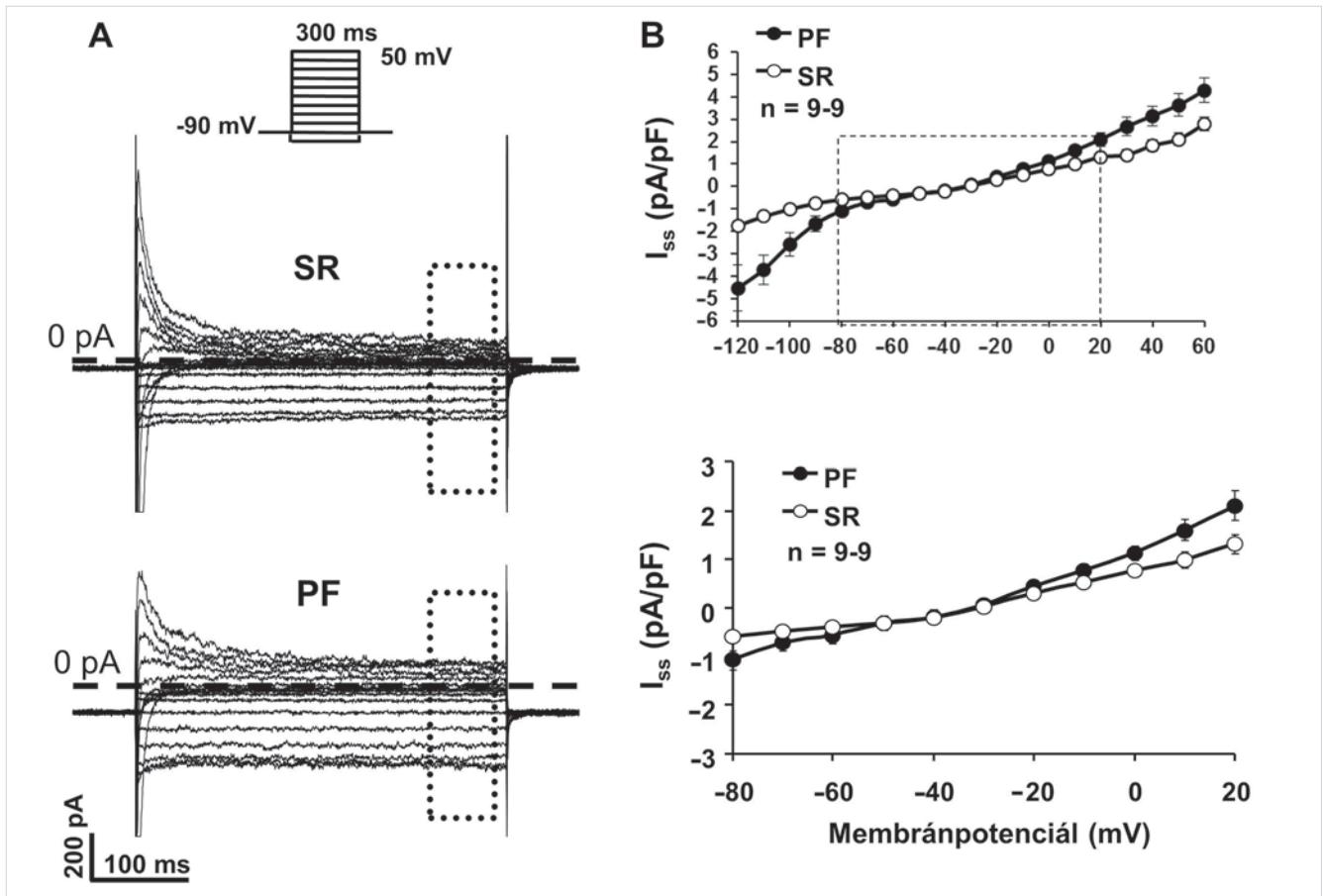
Az így aktiválódott áramot a szelektív  $I_{K,ACh}$ -gátlónak tartott tertapiin (10 nM) jelentős mértékben gátolta (7. ábra). „PF-sejteken” minden előzetes aktiváció nélkül jelentős, konstitutívan aktív  $I_{K,ACh}$ -áramot mértünk, amelyet a tertapiin 26%-ban gátolt (7. ábra, középső mezők).



5. ÁBRA.  $I_{to}$ -áram inaktivációs kinetikája izolált SR és PF kutya pitvari szívizomsejteken kettős exponenciális Levenberg–Marquardt-féle egyenlettel illesztve

1. TÁBLÁZAT. Az  $I_{to}$ -áram gyors és lassú komponensének inaktivációs állandói ( $\tau$ ) és a hozzátartozó amplitúdók (Amp) 20 mV-os feszültségnél mérve izolált „SR- és PF-kutya” pitvari szívizomsejtjein

Paraméter	$\tau_{gyors}$ (ms)	$\tau_{lassú}$ (ms)	Amp <sub>gyors</sub> (pA/pF)	Amp <sub>lassú</sub> (pA/pF)
SR (n=10)	11,70±0,76	121,9±8,82	5,80±0,61	2,32±0,38
PF (n=11)	17,83±2,97	179,2±25,42	4,22±0,7	2,71±0,35



6. ÁBRA. A-mező. Eredeti  $I_{K1}$ -áram regisztrátumok sinusritmusos (SR) és pitvarfibrilláló (PF) kutyából izolált pitvari szívizomsejteken. B-mező.  $I_{K1}$ -áram-feszültség (I-V) karakterisztika „SR- és PF-„ kutyá pitvari sejteken (n=9-9; p=ns)

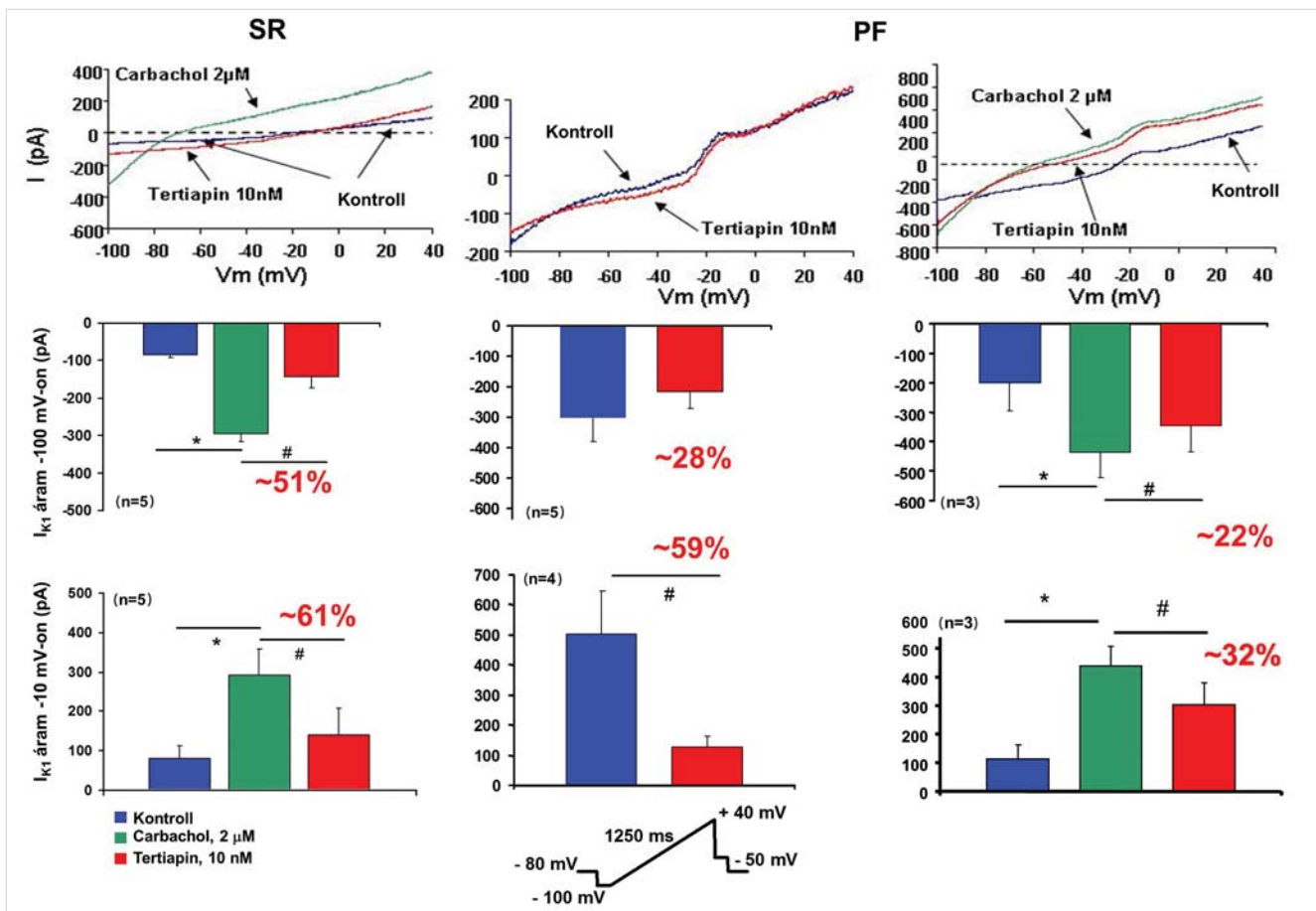
Ezzel igazoltuk kutyából izolált szívizomsejteken is azt a korábbi megfigyelést, hogy humán permanens PF-ben szenvedő betegekben jelen van egy ligand független konstitutív  $I_{K,ACH}$ -áram is, amely feltehetőleg jelentős mértékben hozzájárul a humán pitvari elektrofiziológiai remodelinghez (12). Ha a „PF-sejteket” carbachollal kezeltük, a konstitutív  $I_{K,ACH}$ -ionáramon kívül egy másik, szintén tertiapin-szenzitív, de ligandfüggő  $I_{K,ACH}$ -ionáram jelent meg (7. ábra, jobb oldali mezők).

### Megbeszélés

Tranziens kifelé haladó káliumáram ( $I_{to}$ )  
 Kísérletes eredményeink egyértelműen igazolják egy jelentős (mintegy 14-15 pA/pF) amplitudójú tranziens kifelé haladó káliumáram jelenlétét kutya pitvari szívizomsejtjeiben. Ennek az áramnak a jelenléte okozza a pitvarsejtek akciós potenciáljára nagyon jellemző spike and dome-konfigurációt is (2. ábra; SR pitvari sejt akciós potenciál). A kísérletesen előidézett PF-től sújtott kutyák szívéből izolált myocytákban hasonló méretű  $I_{to}$ -áramot mértünk. Ez a megfigyelés jelentősen eltér a PF-ben szenvedő páciensek pitvari szívizomsejt-mintáiban mért eredményektől: emberben az  $I_{to}$  natív áramnak mind a sűrűsége, mind az áramot alkotó

fehérje és a kódoló mRNS-szintjei jelentősen mérséklődnek („downregulálódnak”). Ezen különbség (ember vs. kutya) okát nem tudjuk. Egy korábbi, a miénkhez hasonló kutya modellben, 6 hétig folyamatosan fenntartott gyors szívingerléssel kiváltott PF-es állatokból izolált szívizomsejteken kimutatták az  $I_{to}$ -áramot meghatározó Kv4.3 mRNS-szintek „downregulációját” (19). Az említett vizsgálatban nem mérték közvetlenül natív  $I_{to}$ -áramot, és mint tudjuk, az  $I_{to}$ -áram több pórusformáló  $\alpha$ -alegység (Kv4.2, Kv4.3 és Kv1.4) és kiegészítő  $\beta$ -alegység (KChIP2, miRP1 stb.) koexpressziójából áll össze (20). Természetesen az a lehetőség sem kizárt, hogy az általunk alkalmazott 4-6 hétig fenntartott gyors szívingerlés (400/min) nem elégséges az  $I_{to}$ -áram humán krónikus vagy permanens PF-ben észlelhető „downregulációjának” reprodukciójához, vagy az eltérés oka egyszerűen species különbség.  
 Az  $I_{to}$ -áram inaktivációs kinetikáját kétexponenciális függvényvel illesztettük. Méréseink eredménye alapján az  $I_{to}$ -áram kinetikája egy gyors ( $\tau \sim 12$  ms) és egy lassúbb ( $\tau \sim 122-150$  ms) komponensből tevődik össze. Ez jelentősen eltér a kamrai szívizomsejtekben kimutatott áramkinetikai értékektől, ahol a gyors kinetika állandója hasonló a pitvaréhoz ( $\tau \sim 4-5$  ms), de a lassú összetevő jelentősen gyorsabb ( $\tau \sim 20-25$  ms), mint a pitvari érték





**7. ÁBRA.** Az  $I_{K_{ACh}}$ -áram SR-ben lévő és pitvarfibrilláló (PF) kutyából izolált pitvarsejtekben.  $-100$  mV-ról  $40$  mV-ra depolarizáló fűrészfogszerű (ramp) protokollt alkalmaztunk. Az  $I_{K_{ACh}}$ -áramot a kolinerger agonista carbachollal ( $2 \mu\text{M}$ ) aktiváltuk és tertiapinnal ( $10 \text{ nM}$ ) blokkoltuk. Az oszlopdiaagramok a  $-100$  mV-on (inward tartomány, középső sor), illetve  $-10$  mV-on (outward tartomány, alsó sor) mért  $I_{K_{ACh}}$ -áramok amplitúdóját demonstrálják. Alul szemléltettük az alkalmazott fűrészfogszerű (ramp) protokollt.

(18). Ebből a megfigyelésből arra a fontos következtetésre juthatunk, hogy pitvaron az  $I_{I_0}$ -áram nemcsak a korai 1. fázis repolarizációt determinálja, hanem a mintegy  $100$ - $150$  ms hosszú lassú komponens(e) révén szerepet játszhat a pitvarsejtek későbbi repolarizációjában. A pitvarfibrilláló kutyák  $I_{I_0}$ -ja szintén két exponenciális függvénnyel illeszthető. Mindkét komponens időállandója valamelyest lassúbb lett, ami részlegesen hozzájárulhat a pitvari akciós potenciál remodellinghez.

denzitása, és az áram karakterisztikumai meghatározó fehérje és mRNS-szintek egyaránt erősödnek („up-regulálódnak”). Érdeemes megjegyezni, hogy kísérleteinkben az  $I_{K_1}$ -áram sűrűségének növekedése a pitvari akciós potenciált meghatározó feszültségtartományban ( $-80$  mV és  $20$  mV között) nem különbözik statisztikailag szignifikáns módon az „SR-es és PF-es” kutyákból izolált pitvari myocytákban ( $-80$  mV és  $20$  mV között) (6. ábra alsó panel).

### Befelé egyenirányító káliumáram ( $I_{K_1}$ ) vizsgálata

A befelé egyenirányító káliumáram legfontosabb szerepe a késői repolarizáció utáni fázisban a membránpotenciál helyreállítása (21), de újabb tanulmányok kimutatták, hogy közvetlen szerepe lehet az akciós potenciál 3. fázisának alakításában, azaz a késői repolarizációban is (22). Eredményeink alapján az  $I_{K_1}$ -áram egyaránt jelen van az SR-ben és kísérletesen indukált „PF-es kutyák pitvari myocytáiban. Utóbbiban (ti. PF-ben) az  $I_{K_1}$ -áram enyhén erősödik („up-regulálódik”), ami hasonló a humán krónikus „PF-sejtekben” mért adatokkal (11), amelyek arról tanúskodnak, hogy az  $I_{K_1}$ -áram

### Az acetilkolin-függő káliumáram ( $I_{K_{ACh}}$ )

Pitvari szívizomsejtekben létezik egy speciális háttér egyenirányító káliumáram, amely nem expresszálódik a kamrasejtekben. Ez az acetilkolin szenzitív káliumáram, az  $I_{K_{ACh}}$  (23). A n. vagus (paraszimpatikus)-izgalom kapcsán felszabaduló acetilkolin (ACh) stimulálja a muszkarin-receptorokat és azok aktiválják az  $I_{K_{ACh}}$ -áramot (24). Eddigi ismereteink szerint az  $I_{K_{ACh}}$ -áram a ligand stimulációja nélkül inaktív. Köztudott, hogy az extrinszik és intrinszik vegetatív (autonóm, szimpatikus/paraszimpatikus) idegrendszer döntő mértékben hozzájárul a PF kialakulásához és/vagy fennmaradásához. Tudjuk, hogy a bolygóideg-izgalom hatására a

pitvari APD és ERP rövidül, és az ACh egyenlőtlen fel szabadulása miatt (is) növekszik a pitvari repolarizáció diszperziója/inhomogenitása (25). A paraszimpatikus izgalom arrhythmogen „táptalaja” a re-entry-rotorok ke letkezésének és a PF fellépésének (1, 26), amely gyak ran előfordul a klinikai gyakorlatban az ún. vagotóniás/ Coumel-típusú PF-ben (27, 28). Természetesen fel vetődő kérdés, hogy a vagus-izgalomtól (alvás, posz tprandiális állapot stb.) indukált PF kialakulásában az  $I_{K,ACH}$ -áram intenzitásának változása, „remodellingje” is szerepet játszik. *Dobrev és munkatársai* 2001-ben ki mutatták, hogy az  $I_{K1}$ -áram „upregulációjával” páru zamosan az  $I_{K,ACH}$ -áramot meghatározó GIRK4-fehérje expressziója csökken, ezért az  $I_{K1}$  „upregulációjával” és  $I_{CaL}$  erősségének csökkenésével magyarázták az ATR-t (11). Később ugyanez a munkacsoport kimutatta, hogy ATR során nem csupán az  $I_{CaL}$ -áram expressziója csök ken, hanem, egyelőre részleteiben még nem teljesen tisztázott foszforilációs-szignalizációs mechanizmus kapcsán (29) permanens PF-ben az  $I_{K,ACH}$ -csatornák, előzetes ligand-stimuláció nélkül, „konstitutívan” nyit va maradnak (12, 30). Ez egy meglepő eredmény volt, mert ez volt az első olyan vizsgálat, amely igazolta, hogy az  $I_{K,ACH}$ -csatornák előzetes ligand-stimuláció nél kü l is képesek aktív áram-átvitelre speciális aritmiafor má(k)ban (pl. permanens PF-ben). Ez a konstitutívan aktív  $I_{K,ACH}$ -áram tehát hozzájárul az PF-re jellemző rö vid és háromszögesített („trianguláris”) APD-morfológi ához (lásd 2. ábra) (PF pitvari szívizomsejt akciós po tenciál), és vélhetően szerepet játszik a pitvari re-entry típusú aritmogenezisben (12). A pitvarspecifikus (csak a pitvarizomzatban jelenlévő)  $I_{K,ACH}$ -gátlás (pl. tertiapin nal) nem okoz kamrai repolarizáció megnyúlást, így va lószínű, hogy nem várható olyan proaritmiás mellékha tás (Torsades de Pointes kamrai tachycardia), amelyet a jelenleg (egyre ritkábban) használt „klasszikus”  $I_{K1}$ -gát lók (pl. dofetilid) okoznak (31). Ennek megfelelően több ször felvetődött a hipotézis, hogy ezen konstitutívan aktív  $I_{K,ACH}$ -áramnak a szelektív inhibitorai ideális pit varspecifikus antiaritmiás hatású gyógyszerek lehetné nek, amelyek alkalmasak a paraszimpatikus izgalomtól iniciált PF gyógyszeres terápiájára (12, 30). A hipoté zist igazolandó számos gyógyszerjelöltet próbáltak ki különféle állatkísérletes modellekben, és az előzetes eredmények biztatóak (32, 33).

Jelen kísérleteinkben igazoltuk a konstitutív  $I_{K,ACH}$ -áram jelenlétét (amint ez a 7. ábra középső mezőiben lát ható). A „PF-cardiomyocytákban” a kolinerg agonista carbachol jelenléte nélkül is identifikálható egy tertia pin-szenzitív áramkomponens (piros görbe és oszlo pok), mind az inward (–100 mV-on), mind az outward tartományban (–10 mV-on). Ez bizonyítja, hogy az  $I_{K,ACH}$ -áram ligandfüggetlen (acetilkolin híján is működő) típusa is „konstitutívan” jelen van a „PF-es” kutyákból izolált pitvarizomsejtben. Hozzá kell tenni, hogy ez az áram nagyon alacsony denzitású, különösen out ward irányban, ezért megkérdőjelezhető, hogy a kons

titutív  $I_{K,ACH}$ -áram elég „erős”-e, hogy önmagában is kiváltja a PF-re jellemző elektromos remodellinget (a markáns pitvari ERP- és APD-rövidülést).

Jelen kísérleteink alapján megengedhetőnek látszik egy új hipotézis körvonalazása. A paraszimpatikus (alap)tónus magától értődően normális körülmények között is mindig jelen van. A vagus-rostoktól/ACh-tól stimulált  $I_{K,ACH}$ -áram tehát folyamatosan és mindig jelen van a pitvari szívizomsejtben, amelyhez hozzáadód hat a konstitutívan aktivált  $I_{K,ACH}$ -áram. Utóbbi „atípu sos” ionáramnak szerepe lehet a PF állandósulásában a permanens típus kialakulásában. A 7. ábra jobb oldali mezőiben bemutatott kísérletek valóban azt igazolják, hogy amennyiben a pitvari remodellingel rendelkező kutyákból izolált myocytákat előzetesen carbachollal aktiváltuk, az így létrehozott áram (amely a konstitutív és carbachollal indukált a  $I_{K,ACH}$ -áramot egyaránt tartal mazza, különösen outward irányban már elegendően nagy (7. ábra, jobb alsó panel), hogy a tertiapin blokkol ása is szignifikánsan nagyobb áramkomponens jelen létét igazolja. Ez az áram, már kellően erős lehet, hogy hozzájáruljon az PF-re jellemző trianguláris és rövid APD-hez.

E hipotézist igazolandó, a közelmúltban *Juhász és munkatársai* kimutatták, hogy a tertiapin képes volt ki védeni a gyors pitvari szívingerléssel kiváltott pitvari elektromos remodelling talaján kialakuló kísérletes PF-et kutyákban (34). További humán vizsgálatok szüksé gesek annak igazolására, hogy az  $I_{K,ACH}$  gátlása klinikai körülmények között is hasznosítható lesz-e a PF meg előzésében, megszüntetésében és/vagy állandósulá sának profilaxisában.

## Következtetések

A pitvari  $I_{to}$ -áram a lassú inaktivációs kinetika miatt a pit vari szívizomsejtben jelentősebb mértékben hozzá járulhat a késői repolarizációhoz, mint amelyet a kamrai szívizomsejtben kimutattak. Az  $I_{to}$ -áram kutyamode llünkben a humán adatokkal ellentétben, csak kis mér tékben „downregulálódott” PF-ben, viszont inaktivációs kinetikája szignifikánsan lassult.

A konstitutív  $I_{K,ACH}$  megjelenése bizonyítja, hogy PF-ku tyamodellünkben a pitvari elektromos remodelling kia lakult. A ligandfüggő és konstitutívan aktív  $I_{K,ACH}$ -áramok együttesen feltehetően fontos szerepet játszanak (leg alábbis kutyában) az PF-re jellemző háromszög alakú, a fiziológiásnál is rövidebb akcióspotenciál-jelforma ki alakításában.

## Köszönetnyilvánítás

A jelen munka a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és In novációs Hivatal (OTKA NN-109904, NN-110896, K-119992 és GINOP-2.3.2-15-2016-00006), a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú Nemze ti Kiválóság Program (Hazai hallgatói, illetve kutatói

személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program) és a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült.

Megkülönböztetett köszönetünket szeretnénk kifejezni Prof. dr. Papp Gyula akadémikusnak, aki a jelen dolgot szinte valamennyi szerzőjének a pályáját és szakmai tevékenységét mindvégig messzemenően támogatta.

#### Irodalom

- Nattel S. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature* 2002; 415: 219–26. <https://doi.org/10.1038/415219a>
- Wijffels MCEF, Kirchhof CJHJ, Dorland R, et al. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake, chronically instrumented conscious goats. *Circulation* 1995; 92: 1954–1968. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.92.7.1954>
- Nattel S. Atrial electrophysiological remodeling caused by rapid atrial activation: underlying mechanisms and clinical relevance to atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 1999; 42: 298–308. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(99\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(99)00022-X)
- Jost N, Fazekas T, Pitvari (elektromos, kontraktilis és strukturális) remodelling. In: *Titvarfibrilláció. A szívműködéstől a betegségtől* (szerk. Fazekas T, Bogáts G, Csanádi Z, Jost N, Lőrincz I). Medicina Kiadó; 2010. pp. 91–138.
- Lu Z, Scherlag BJ, Lin J, et al. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation: autonomic mechanism for atrial electrical remodeling induced by short-term rapid atrial pacing. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2008; 1(3):184–192. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.108.784272>
- Sheng X, Scherlag BJ, Yu L, et al. Prevention and reversal of atrial fibrillation inducibility and autonomic remodeling by low-level vagosympathetic nerve stimulation. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57: 563–571. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.09.034>
- Chen YJ, Chen SA, Chen YC, et al. Effects of rapid atrial pacing on the arrhythmogenic activity of single cardiomyocytes from pulmonary veins: implication in initiation of atrial fibrillation. *Circulation* 2001; 104: 2849–2854. <https://doi.org/10.1161/hc4801.099736>
- Burstein B, Qi XY, Yeh YH, et al. Atrial cardiomyocyte tachycardia alters cardiac fibroblast function: a novel consideration in atrial remodeling. *Cardiovasc Res* 2007; 76: 442–452. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2007.07.013>
- Yue L, Feng J, Gaspo R, et al. Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation. *Circ Res* 1997; 81: 512–525. <https://doi.org/10.1161/01.RES.81.4.512>
- Christ T, Boknik P, Wöhrl S, et al. Reduced L-type  $Ca^{2+}$  current density in chronic human atrial fibrillation is associated with increased activity of protein phosphatases. *Circulation* 2004; 110: 2651–2657. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000145659.80212.6A>
- Dobrev D, Graf E, Wettwer E, et al. Molecular basis of downregulation of G-protein-coupled inward rectifying  $K^{+}$  current ( $I_{K_{ACh}}$ ) in chronic human atrial fibrillation: decrease in GIRK4 mRNA correlates with reduced  $I_{K_{ACh}}$  and muscarinic receptor-mediated shortening of action potentials. *Circulation* 2001; 104: 2551–2557. <https://doi.org/10.1161/hc4601.099466>
- Dobrev D, Friedrich A, Voigt N, et al. The G-protein gated potassium current  $I_{K_{ACh}}$  is constitutively active in patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation* 2005; 112: 3697–3706. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.575332>
- Sun H, Gaspo R, Leblanc N, Nattel S. Cellular mechanisms of atrial contractile dysfunction caused by sustained atrial tachycardia. *Circulation* 1998; 98: 719–727. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.98.7.719>
- Schotten U, Duytschaever M, Ausma J, Eijsbouts S, Neuberger HR, Allesie M. Electrical and contractile remodeling during the first days of atrial fibrillation go hand in hand. *Circulation* 2003; 107: 1433–1439. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000055314.10801.4F>
- Courtemanche M, Ramirez RJ, Nattel S. Ionic targets for drug therapy and atrial fibrillation-induced electrical remodeling: insights from a mathematical model. *Cardiovasc Res* 1999; 42: 477–489. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(99\)00034-6](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(99)00034-6)
- Tieleman RG, Van Gelder IC, Bosker HA, et al. Does flecainide regain its antiarrhythmic activity after electrical cardioversion of persistent atrial fibrillation? *Heart Rhythm* 2005; 2: 223–230. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2004.11.014>
- Duytschaever M, Blaauw Y, Allesie M. Consequences of atrial electrical remodeling for the anti-arrhythmic action of class IC and class III drugs. *Cardiovasc Res* 2005; 67: 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.02.019>
- Virág L, Jost N, Papp R, et al. Analysis of the contribution of  $I_{to}$  to repolarization in canine ventricular myocardium. *Br J Pharmacol* 2011; 164: 93–105. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01331.x>
- Yue L, Melnyk P, Gaspo R, et al. Molecular mechanisms underlying ionic remodeling in a dog model of atrial fibrillation. *Circ Res* 1999; 84: 776–784. <https://doi.org/10.1161/01.RES.84.7.776>
- Jost N. Transmembrane ionic currents underlying cardiac action potential in mammalian hearts. In: *Advances in cardiomyocyte research*. Ed. Péter P. Nánási. Transworld Research Network, Tivandrum, Kerala, India; 2009. p. 1–45.
- Anumonwo JMB, Lopatin AN. Cardiac strong inward rectifier potassium channels. *J Mol Cell Cardiol* 2010; 48: 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.08.013>
- Biliczki P, Virág L, Jost N, et al. Interaction of different potassium channels in cardiac repolarization in dog ventricular preparations: role of the repolarization reserve. *Br J Pharmacol* 2002; 137: 361–368. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704881>
- Heidbüchel H, Vereecke J, Carmeliet E. Three different potassium channels in human atrium: contribution to the basal potassium conductance. *Circ Res* 1990; 66: 1277–1286. <https://doi.org/10.1161/01.RES.66.5.1277>
- Yamada M, Inanobe A, Kurachi Y. G protein regulation of potassium ion channels. *Pharmacol Rev* 1998; 50: 723–757.
- Liu L, Nattel S. Differing sympathetic and vagal effects on atrial fibrillation in dogs: role of refractoriness heterogeneity. *Am J Physiol* 1997; 273: H805–H816.
- Kneller J, Zou R, Vigmond EJ, et al. Cholinergic atrial fibrillation in a computer model of a two-dimensional sheet of canine atrial cells with realistic ionic properties. *Circ Res* 2002; 90: E73–E87. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000019783.88094.BA>
- Yeh YH, Lemola K, Nattel S. Vagal atrial fibrillation. *Acta Cardiol Sin* 2007; 23: 1–12.
- Coumel P, Attuel P, Lavallée J, et al. Syndrome d'arythmie auriculaire d'origine vagale. *Arch Mal Coeur* 1978; 6: 643–656.
- Voigt N, Friedrich A, Bock M, et al. Differential phosphorylation-dependent regulation of constitutively active and muscarinic receptor-activated  $I_{K_{ACh}}$  channels in patients with chronic atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 2007; 74: 426–437. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2007.02.009>
- Voigt N, Maguay A, Yeh xYH, et al. Changes in  $I_{K_{ACh}}$  single channel activity with atrial tachycardia remodeling in canine atrial cardiomyocytes. *Cardiovasc Res* 2008; 77: 35–43. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvm051>
- Lengyel C, Varró A, Tábori K, Papp JG, Baczkó I. 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: 941–951. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707299>
- Hashimoto N, Yamashita T, Tsuruzoe N. Tertiapin, a selective  $I_{K_{ACh}}$  blocker, terminates atrial fibrillation with selective atrial effective refractory period prolongation. *Pharmacol Res* 2006; 54: 136–41. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2006.03.021>
- Hashimoto N, Yamashita T, Tsuruzoe N. Characterization of in vivo and in vitro electrophysiological and antiarrhythmic effects of a novel  $I_{K_{ACh}}$  blocker, NIP-151: a comparison with an  $I_{Kr}$ -blocker dofetilide. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008; 51: 162–169. <https://doi.org/10.1097/JFC.0b013e31815e854c>
- Juhász V, Hornyik T, Benák A, et al. Comparison of the effects of  $I_{K_{ACh}}$ ,  $I_{Kr}$  and  $I_{Na}$  block in conscious dogs with atrial fibrillation and on action potentials in remodeled atrial trabeculae. *Can J Physiol Pharmacol* epub, 2017; <https://doi.org/10.1139/cjpp-2017-0342>.