

A QT-intervallum rövidtávú variabilitásának fokozódása előre jelzi a ciszaprid indukálta kamrai ritmuszavarok kialakulását

Krajcs Nóra^{1,2}, Tábori Katalin¹, Juhász Viktor¹, Hornyik Tibor¹, Varró András^{1,3}, Baczkó István¹

¹Szegedi Tudományegyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szeged

²MTA, Ökológiai Kutatóközpont, BLI Kísérletes Állattani Osztály, Tihany

³MTA-SZTE, Keringéscsökkentő Farmakológiai Kutatócsoport, Szeged

Levelezési cím: Dr. Baczkó István, 6720 Szeged, Dóm tér 12. E-mail: baczko.istvan@med.u-szeged.hu

Célkitűzés: A preklinikai gyógyszerbiztonsági tesztek egészséges állatokon, szöveteken vizsgálják a jelölt molekulák szívizom repolarizáció nyújtó hatását, melyek nem képviselik a ritmuszavarok kialakulására fokozott érzékenységet mutató betegeket, és a repolarizáció megnyúlásának mértéke nem korrelál a ritmuszavarok kialakulásának gyakoriságával. Így a fejlesztés alatt álló gyógyszerek proaritmiás mellékhatásainak megbízható előrejelzése várat magára. Vizsgáltuk egy proaritmiás hatásai miatt forgalomból kivont szer, a ciszaprid kamrai ritmuszavarokat kiváltó, valamint EKG paraméterekre kifejtett hatásait szűkített repolarizációs rezervvel rendelkező nyúlmodellen.

Módszerek: Altatott nyulakon a szívizom repolarizációs tartalékot az I_{Ks} -áram farmakológiai gátlásával (0,1 mg/kg HMR1556, iv.) csökkentettük. Vizsgáltuk a ciszaprid (0,5, 1 és 2 mg/kg), valamint a HMR1556 és ciszaprid kombináció után a ritmuszavarok megjelenését, a hagyományos EKG-intervallumok (PQ, RR, QT és QT_c) mellett meghatároztuk a QT és RR rövidtávú variabilitását (STV_{QT} és STV_{RR}). Az STV_{QT} a ritmuszavarok előrejelzésére javasolt EKG-paraméter.

Eredmények: Az I_{Ks} -gátló HMR1556 nem okozott ritmuszavarokat, nem nyújtotta a QT_c-t és nem növelte az STV_{QT}-t. A ciszaprid önmagában is okozott ritmuszavarokat, azonban az I_{Ks} -gátlóval kombinációban jelentősen fokozta a Torsades de Pointes (TdP) ritmuszavar incidenciáját (50%). A ciszaprid önmagában és HMR1556-al kombinációban hasonlóan nyújtotta a QT_c-t, de az STV_{QT} kifejezett emelkedése a legnagyobb gyakoriságú TdP aritmia mellett jelentkezett.

Következtetések: Csökkent repolarizációs rezerv mellett a ciszaprid fokozta a kamrai aritmiák gyakoriságát, a fokozott ritmuszavar incidenciát a QT-intervallum rövidtávú variabilitásának szignifikáns emelkedése előzte meg. Eredményeink támogatják a proaritmiás kockázat felmérésére során az STV_{QT}-paraméter meghatározását.

Kulcsszavak: repolarizációs tartalék, proaritmia, rövidtávú QT-intervallum variabilitás, Torsades de Pointes, ciszaprid

Increased short-term variability of the QT interval predicts cisapride induced ventricular arrhythmias

Aims: Preclinical drug safety tests employ healthy animals and animal tissues for the investigation of the cardiac repolarization prolonging effects of compounds, that do not represent patients exhibiting increased arrhythmia susceptibility, and the degree of repolarization prolongation does not correlate directly with the incidence of arrhythmias. Therefore, the reliable prediction of proarrhythmic potency of compounds is lacking. Here we investigated the effects of cisapride, a drug withdrawn from the market due to its proarrhythmic side effects, on ventricular arrhythmias and ECG parameters in a rabbit model with impaired repolarization reserve.

Methods: In anaesthetized rabbits, cardiac repolarization reserve was reduced by pharmacological block of the I_{Ks} current (0.1 mg/kg HMR1556, i.v.). The development of arrhythmias was registered following cisapride (0.5, 1 and 2 mg/kg) or HMR1556 and cisapride combination (n=10 in all groups). Conventional ECG intervals (PQ, RR, QT and QT_c), the short term variability of QT and RR (STV_{QT} and STV_{RR}) were measured. STV_{QT} is an ECG parameter suggested for more reliable prediction of arrhythmias.

Results: The I_{Ks} blocker HMR1556 did not cause any arrhythmias, did not prolong the QT_c and did not increase STV_{QT}. Cisapride induced some arrhythmias, however, the incidence of Torsades de Pointes (TdP) was markedly increased (50%) when cisapride was combined with the I_{Ks} blocker. Cisapride alone and with HMR1556 in combination caused similar QT_c prolongation. The STV_{QT} was highest following the combination that caused the highest incidence of TdP.

Conclusions: In a rabbit model with reduced repolarization reserve, cisapride increased the incidence of ventricular arrhythmias and the significant elevation of the short term variability of the QT interval preceded the increase in arrhythmia incidence. Our results support the calculation of STV_{QT} during proarrhythmic side effect assessment.

Keywords: repolarization reserve, proarrhythmia, short term variability of the QT interval, Torsades de Pointes, cisapride

Bevezetés

A gyógyszer indukálta, életet veszélyeztető kamrai ritmuszavar a hatóanyagok legaggasztóbb és legsúlyosabb mellékhatásai közé tartozik. Ahhoz, hogy megakadályozzuk az új gyógyszerjelöltek igen költséges fejlesztése során a lemorzsolódást, valamint a már forgalomba hozott gyógyszerek visszavonását proaritmias hatásai miatt, a hatóanyagok ritmuszavart kiváltó potenciáljának preklinikai és klinikai felmérésén javítanunk kell (1). Számos kardiovaszkuláris és nem kardiovaszkuláris szer okozhat ún. Torsades de Pointes (TdP) kamrai ritmuszavart (2). A TdP tipikusan (de nem kizárólag) gyógyszer-indukálta kaotikus kamrai tachycardia, amely sokszor spontán megszűnik, ilyenkor rövid ideig tartó eszméletvesztés jelentkezhet, de a TdP átmehet kamrafibrillációba és hirtelen szívhalált okozhat (3). Elfogadhatatlan, hogy a nem életveszélyes kórállapotok kezelésére használt szerek alkalmazása egyes esetekben hirtelen szívhalálhoz vezethet, de fontos kiemelni, hogy klinikai körülmények között rendkívül nehéz a TdP-ritmuszavar megbízható előrejelzése (3). Meglepő, de a jelenlegi nemzetközi irányelvekben foglalt, kísérleti állatokon és azokból származó izolált szíveken, szívizomszöveten, sejteken végzett preklinikai, szív-elektrofiziológiai biztonsági vizsgálatok egészséges állatok felhasználásával történik (4), a humán EKG-szűrővizsgálatok pedig egészséges önkénteseken zajlanak (5). Számos kórkép jár a szív repolarizáció zavaraival és a repolarizációs rezerv károsodásával (6), ezekben a betegekben jóval magasabb a kamrai ritmuszavarok kialakulásának rizikója (pl. krónikus szívelégtelenség, hipertrófiás cardiomyopathia, kongenitális hosszú QT-szindrómák, diabetes mellitus stb.). Könnyű belátni, hogy az egészséges, strukturális és/vagy elektromos szívizom-átépüléssel (ún. „remodelling”) nem rendelkező állatmodellek, valamint az egészséges önkéntesek nem reprezentálják megfelelően a szívritmuszavarok kialakulására különösen érzékeny betegpopulációt. Továbbá, az említett vizsgálatok a gyógyszerjelölt molekulák hERG-áramgátló, szívizom szöveti akciós potenciált és az EKG-n mérhető QT-intervallumot nyújtó hatásokra koncentrálnak. Egyre több irodalmi adat igazolja ugyanakkor, hogy a szívizom-repolarizációt nyújtó hatás önmagában nem tehető egyenlővé a fokozott proaritmias kockázattal (7, 8, 9, 10). Számos kórkép járhat a szívizom akciós potenciál felszálló ágának lassulásával és következményes vezetési zavarral, amely szintén elősegíti a kamrai ritmuszavarok kialakulását (11). A fenti megfontolások alapján a jelenlegi modellek alkalmazá-

sával rejtve maradhat a fejlesztés alatt álló hatóanyagok valódi proaritmias potenciálja, így szükség van új, a ritmuszavarok iránt fokozott érzékenységet mutató betegcsoportokat jobban jellemző kísérletes modellek bevezetésére.

Munkacsoportunk a korábbiakban kifejlesztett egy nyúl proaritmia kísérleti modellt, amelyben a repolarizációs tartalék (6, 12) szűkítését az abban kulcsszerepet játszó, késői egyenirányító káliumáram lassú komponenseként (I_{Ks}) számon tartott repolarizáló áram (13, 14) akut farmakológiai gátlásával értük el (15). A hagyományos modellekkel szemben ez a kísérleti elrendezés jobban reprodukálhatja a patológiás okokból meggyengült repolarizációs tartalék talaján megemelkedett kamrai ritmuszavarok iránti érzékenységet (16).

Jelen kísérleteink célja az volt, hogy a fenti modellben megvizsgáljuk a ciszaprid, egy proaritmias mellékhatásai miatt számos országban a gyógyszerforgalomból kivont prokinetikum kamrai ritmuszavarokra, hagyományos EKG-paraméterekre, valamint a közelmúltban a súlyos kamrai ritmuszavarok megbízhatóbb előrejelzésére javasolt nem konvencionális EKG-paraméterre, a QT-intervallum rövidtávú variabilitására (STV_{QT}) kifejtett hatásait.

Módszerek

Torsades de Pointes proaritmia modell altatott nyulakon

Kísérleti protokolljainkat a Szegedi Tudományegyetem Munkahelyi Állatkísérletes Bizottsága (engedély száma: I-74-5/2012) és a Csongrád Megyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc Biztonsági és Állategészségügyi Igazgatósága engedélyezte (engedély száma: XIII/1211/2012).

A kísérleteket hím, 2-3 kg tömegű új-zélandi fehér nyulakon végeztük. Az állatokat a jobb fül marginális vénájába helyezett kanülön át tiopentállal (50 mg/kg) altattuk, vérnyomásmérés céljából a bal arteria carotist, későbbi anyagbeadáshoz a jobb vena jugularist kanüláltuk. A beavatkozás után 20 perces stabilizálódási idő elteltével kezdtük meg a méréseket. A kísérlet végén a nyulakat 300 mg/kg pentobarbitál (RELEASE) intravénás beadásával altattuk túl. Az artériás vérnyomást és az elektrokardiogramot (I-III. elvezetés) a kísérlet időtartama alatt folyamatosan regisztráltuk, digitalizáltuk és tároltuk a későbbi „off-line” elemzéshez SPEL Haemosys Advanced szoftver segítségével (3.2 verzió, MDE Heidelberg, Németország). A PQ-, RR-, QT-intervallumokat 30 egymást követő ütés átlagaként számoltuk (egy intervallum rövidtávú variabilitásának számításához

Rövidítések jegyzéke

ES: extrasystole; $I_{Ca,L}$: L-típusú kalciumáram; I_{Kr} : késői egyenirányító káliumáram gyors komponense; I_{Ks} : késői egyenirányító káliumáram lassú komponense; I_{to} : tranziens kifelé haladó káliumáram; MBP: artériás középnyomás; QT_c : frekvencia korigált QT-intervallum; STV_{QT} : a QT-intervallum rövidtávú variabilitása; STV_{RR} : az RR-intervallum rövidtávú variabilitása
TdP: Torsades de Pointes kamrai tachycardia; VT: kamrai tachycardia.

szükséges minimális ütésszám). A QT-intervallumok méréséhez a *Farkas és munkatársai* által megadott irányelveket követtük (17). Mivel a nyulak jóval magasabb szívfrekvenciája miatt az embernél használatos formulák nem tükrözik a QT-intervallum frekvenciafüggő változásait, a QT-intervallumok frekvencia korrekcióját korábban publikált, altatott nyulakra kidolgozott egyenlettel számítottuk: $QT_c = QT - (0,704 * [RR - 250])$ (18). A kísérletesen előidézett kamrai ritmuszavarok osztályozásánál a korszerűsített Lambeth Konvenció alapelveit követtük: pl. a kettő vagy három egymást követő kamrai extrasystole esetén az aritmiát „Salvo”-ként definiáltuk (19).

Az RR- és QT-intervallum rövidtávú variabilitása (STV_{RR} és STV_{QT})

Az RR- és QT-intervallumok ütésről ütésre számított instabilitásának jellemzésére ún. Poincaré ábrázolást végeztünk, ahol az RR- és QT-intervallumokat a megelőző intervallumértékek függvényében ábrázoltuk (2. ábra). A Poincaré-diagramok 30 egymást követő, sinusritmusban mért intervallum eredményeit mutatják be. Ha az adott kísérleti időpontban TdP-ritmuszavar alakult ki (pl. az I_{Ks} -gátló HMR1556 és ciszaprid kombinációját követően), akkor a mérést a TdP kialakulása előtt végeztük el. Az STV_{RR} és STV_{QT} számításához a következő egyenletet használtuk: $STV = \sum |D_{n+1} - D_n| (30 * \sqrt{2}) - 1$, ahol a D a QT- vagy RR-intervallumot képviseli. Az intervallumok instabilitásának karakterizálása a Poincaré-térkép kvalitatív és kvantitatív matematikai analízisén alapszik (20).

Felhasznált anyagok és adagolás

Az I_{Ks} -gátló HMR1556 (Tocris Bioscience, Abingdon, Egyesült Királyság) és a ciszaprid (Sigma Aldrich Hungary, Budapest) oldása dimetil-szulfoxidban (DMSO; végső beadott koncentráció <0,1%) történt. A törzsolatok hígítása közvetlenül a kísérleteket megelőzően történt.

Minden intravénás infúzió programozható infúziós pumpával történt (Terufusion TE-3, Terumo Europe, Leuven, Belgium). A nyulak első csoportja 0,5, 1 és 2 mg/kg ciszaprid infúziót kapott, minden dózist 5 perc alatt, 2 ml/kg volumenben. A dózisok beadása között 20 perc telt el folyamatos vérnyomás és EKG-regisztrálás mellett. A második csoport 0,1 mg/kg I_{Ks} -gátló HMR1556-ot kapott, amelyet 20 perc elteltével a fentiekben említett 0,5, 1 majd 2 mg/kg ciszaprid infúzió követett.

Statisztikai analízis

A ritmuszavarok előfordulási gyakoriságának összehasonlítására a χ^2 -tesztet alkalmaztuk Yates-korrekcióval. Minden más értéket átlag \pm SEM formában tüntettünk fel. Variacionális után a csoportokat Student t-teszt segítségével hasonlítottuk össze. A statisztikai szignifikancia elfogadott határértéke $p < 0,05$ volt.

1. TÁBLÁZAT. A szívfrekvencia, QT- és QT_c -intervallum, valamint az artériás középnyomás (MBP) kiindulási értékei a két vizsgálati csoportban (kezelések előtt) (n=10 állat/csoport)

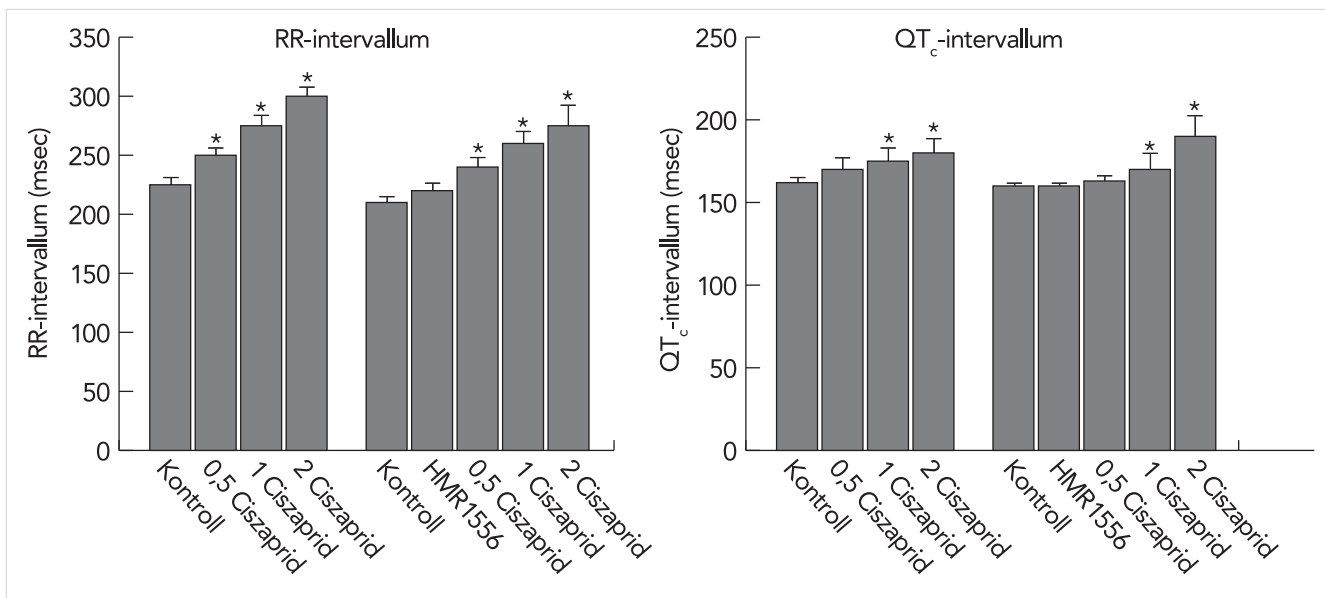
	Szívfrekvencia (1/perc)	QT-intervallum (msec)	QT_c-intervallum (msec)	MBP (Hgmm)
1. csoport (ciszaprid)	268 \pm 11,5	151,2 \pm 6,66	166,9 \pm 6,00	87 \pm 4,1
2. csoport (HMR+ciszaprid)	273 \pm 10,7	146,7 \pm 6,93	164,9 \pm 2,32	84 \pm 4,1

Eredmények

A ciszaprid, az I_{Ks} -gátló HMR1556 és kombinációjuk hatása az artériás középnyomásra, a szívfrekvenciára, a PQ- és a QT_c -intervallumra altatott nyulakon. Az altatott nyulak két csoportja között a kezelések megkezdése előtt nem mutatkozott különbség az artériás középnyomás, a szívfrekvencia, QT- és QT_c -értékek tekintetében (1. táblázat). A vérnyomásértékek a két csoportban a kezelések következtében nem változtak szignifikánsan.

A szívfrekvenciát szignifikánsan csökkentette (RR-intervallum nőtt) a ciszaprid mindhárom dózisa, míg az I_{Ks} -gátló HMR1556 nem volt hatással a szívfrekvenciára (1. ábra, bal panel). A várakozásoknak megfelelően (ismert I_{Ks} -gátló hatása alapján) a frekvencia korrigált QT-intervallumot (QT_c) a ciszaprid 1 és 2 mg/kg dózisban nyújtotta, a HMR1556 önmagában nem nyújtotta a repolarizációt altatott nyulakon (1. ábra, jobb panel). A PQ-intervallumok alapértékei nem különböztek a két csoportban (64,9 \pm 3,27 vs. 63,2 \pm 2,06 ms, (n=10) mindkét csoportban, $p > 0,05$). A ciszaprid legnagyobb dózisa szignifikánsan nyújtotta a PQ-intervallumot, amely a ciszaprid nagyobb dózisban korábban tapasztalt kalciumcsatorna-gátló hatásával összhangban áll (74,8 \pm 3,75 vs. 64,9 \pm 3,27 ms kontrollban, $p < 0,05$).

A ciszaprid, az I_{Ks} -gátló HMR1556 és kombinációjuk hatása a rövidtávú RR-, QT-variabilitásra, valamint a kamrai ritmuszavarok incidenciájára altatott nyulakon. A szívizom kamrai repolarizáció temporális instabilitását jellemző rövidtávú QT-intervallum variabilitás I_{Ks} -gátlást, valamint HMR1556+ciszaprid kombináció adagolását követő illusztrálására Poincaré-diagramot szerkesztettünk, amely egy altatott nyúlra mutatja be a jellemző STV_{QT} -változásokat kísérleti elrendezésünkben (2. ábra). Látható, hogy a kontroll QT-variabilitáshoz képest (fekete körök) az I_{Ks} -gátló HMR1556 (szürke négyzetek) nem változtatott az STV_{QT} -n, míg a ciszaprid HMR1556-ot követő adagolása után az adatpontok által (világosszürke háromszögek) lefedett terület jelentősen megnőtt, illusztrálva a megemelkedett STV_{QT} -értékét, míg az adatponthalmaz jobbra és



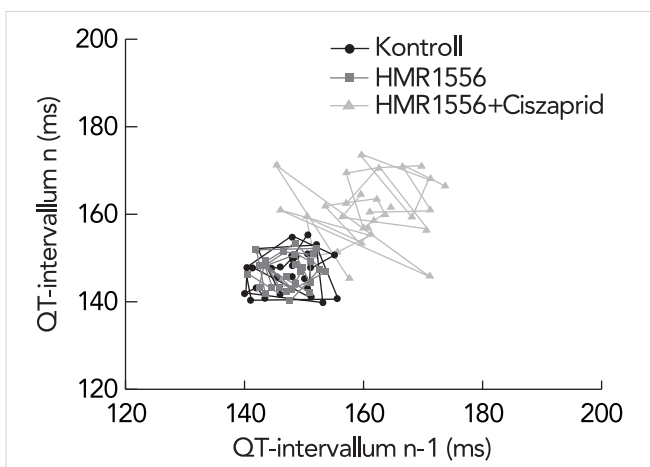
1. ÁBRA. A ciszaprid (0,5–1, és 2 mg/kg) hatása önmagában, valamint I_{Ks}-gátló HMR1556 (0,1 mg/kg) előkezelést követően az RR- és QT_c-intervallumokra altatott nyúlón. n=10 mindkét csoportban; *p<0,05 a kontrollhoz képest

felfelé tolódott el a ciszaprid QT-intervallumot nyújtó hatását jelezve (2. ábra).

Felmerülhet, hogy a QT-intervallum variabilitását befolyásolhatja a szívfrekvencia rövidtávú variabilitása is, ezért számítottuk és ábrázoltuk az STV_{RR}-értékeket is a két vizsgált csoportban (3. ábra, bal panel). A ciszaprid legnagyobb alkalmazott dózisa szignifikánsan növelte az STV_{RR}-t, míg HMR1556 előkezelést követően az 1 és 2 mg/kg dózisú ciszaprid fokozta az STV_{RR}-t (3. ábra, bal panel). Látható azonban, hogy az STV_{RR}-növekedés mértéke, valamint a növekedés megléte vagy hiánya nem mutatott összefüggést az STV_{QT} változásaival (3. ábra, jobb panel). A repolarizáció instabilitását jellemző STV_{QT} minden ciszaprid kezelést követően

szignifikánsan emelkedett, legnagyobb mértékben a HMR1556 + 0,5 mg/kg ciszaprid kombinációt követően (3. ábra, jobb panel), mely kezelést követően alakult ki leggyakrabban a TdP-ritmuszavar (4. ábra, D-panel).

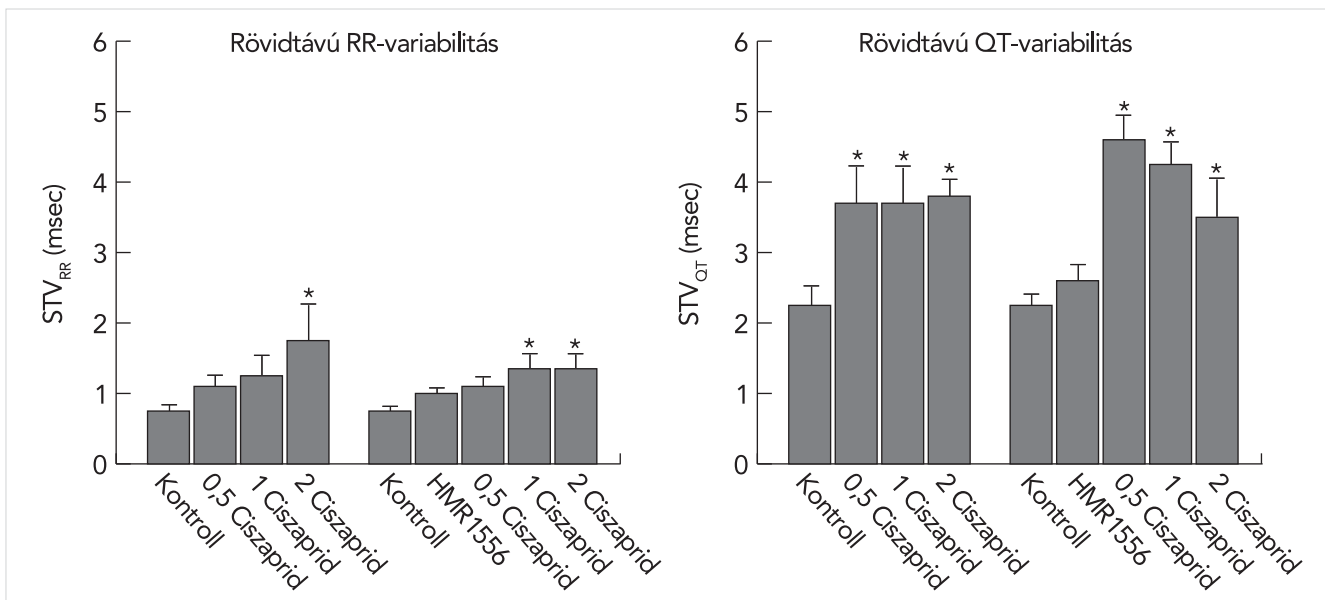
A kamrai ritmuszavarok gyakoriságát a 4. ábra foglalja össze. Az I_{Ks}-gátló HMR1556 kezelés nem vezetett kamrai ritmuszavarok kialakulásához. A ciszaprid adagolás azonban változatos aritmiákat indukált altatott nyulakon. A HMR előkezeléstől függetlenül, az állatok túlnyomó többségében kialakultak kamrai extraszisztolék ciszaprid adagolást követően (4. ábra, A-panel). Az I_{Ks}-gátlás, hasonlóan a kamrai extraszisztolék esetén tapasztaltakhoz, nem befolyásolta szembetűnően a ciszaprid indukálta Salvo és kamrai tachycardia előfordulását (4. ábra, B- és C-panelek). Ezzel szemben, a ciszaprid indukálta TdP előfordulása az I_{Ks}-gátlást követően a ciszaprid legkisebb alkalmazott dózisának adagolását követően volt a leggyakoribb. Kiemelendő, hogy a kamrai aritmiák kialakulása előtt mért STV_{QT}-érték ebben a csoportban volt a legmagasabb (3. ábra, jobb panel).



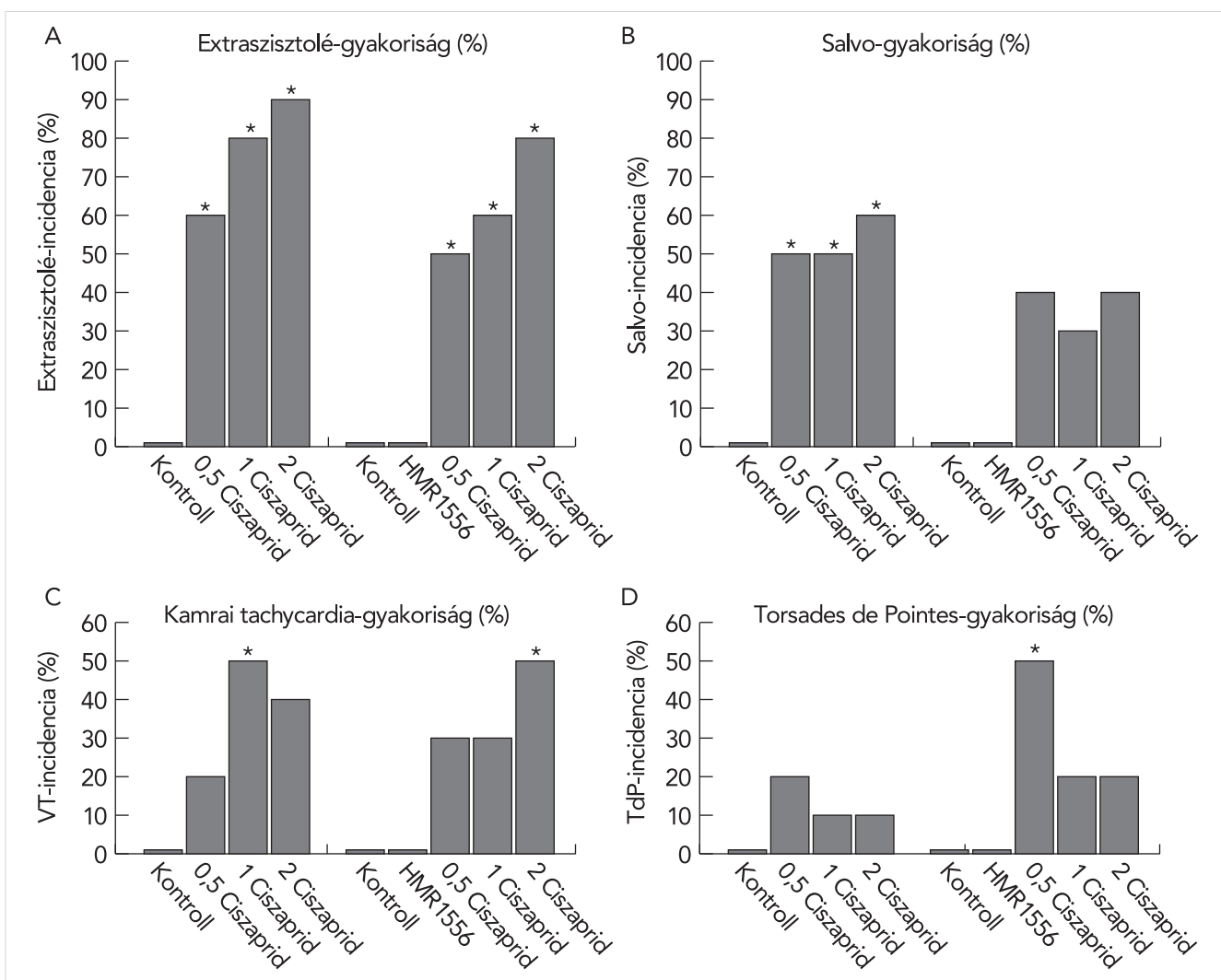
2. ÁBRA. Reprezentatív Poincaré-diagram, amely illusztrálja a QT-intervallum variabilitását az I_{Ks}-blokkoló HMR1556 (0,1 mg/kg) önmagában, és ciszapriddal (0,5 mg/kg) történt kombinált adagolását követően egy altatott nyúlón

Megbeszélés

A gyógyszerjelöltek preklinikai, szív-elektrofiziológiai biztonsági vizsgálatára jelenleg használt módszerek a szívizom kamrai repolarizáció nyújtó mellékhatására koncentrálnak (4, 5), ugyanakkor nem megbízhatóak, nem jelzik kellő érzékenységgel a vizsgált vegyületek proaritmiás mellékhatásait. A felhasznált *in vitro* és *in vivo* modellek egészséges szöveteket, állatokat alkalmaznak (4, 5), így nem képviselik megfelelően a ritmuszavarok kialakulására fokozottan érzé-



3. ÁBRA. Az RR- és QT-intervallumok rövidtávú variabilitása ciszaprid (0,5–1, és 2 mg/kg), az I_{Ks}-gátló HM1556 (0,1 mg/kg) és kombinációjuk adagolását követően altatott nyulakon. n=10 mindkét csoportban; *p<0,05 a kontrollhoz képest



4. ÁBRA. Különbféle kamrai ritmuszavarok előfordulási gyakorisága ciszaprid (0,5–1, és 2 mg/kg), az I_{Ks}-gátló HM1556 (0,1 mg/kg) és kombinációjuk adagolását követően altatott nyulakon. n=10 mindkét csoportban; *p<0,05 a kontrollhoz képest

keny betegpopulációkat (21); továbbá számos klinikai és állatkísérletes adat bizonyítja, hogy a repolarizáció megnyúlásának mértéke nem korrelál a súlyos ritmuszavarok kialakulásának gyakoriságával. Munkacsoportunk a korábbiakban két, a repolarizációs rezerv kialakításában kulcsszerepet játszó I_{Ks} -csatorna (13, 14) funkciójának csökkentésén alapuló, gyengített repolarizációs tartalékkal rendelkező (22) proaritmiás *in vivo* állatmodellt vezetett be (15, 23). Jelen tanulmányunkban a proaritmiás mellékhatásai miatt számos országban forgalomból kivont prokinetikum, a ciszaprid ritmuszavarokat kiváltó hatásait vizsgáltuk szűkített repolarizációs tartalékkal jellemezhető nyúlmodellen. Eredményeink szerint a ciszaprid önmagában adagolva is okozott kamrai ritmuszavarokat, de a tipikus gyógyszer indukálta kamrai ritmuszavar, a Torsades de Pointes incidenciája csökkent repolarizációs tartalék mellett volt a legmagasabb. A legnagyobb TdP gyakoriság mellett számítottuk a legnagyobb mértékű rövidtávú QT-intervallum variabilitás (STV_{QT}) emelkedést, amely a súlyos kamrai ritmuszavarok megbízhatóbb előrejelzésére közelmúltban ajánlott helyettesítő EKG biomarker (24).

Jelen munkánkban a repolarizációs rezerv csökkentését az I_{Ks} akut farmakológiai gátlásával értük el. Az erre a célra alkalmazott HMR1556 korábbi vizsgálatokban az I_{Ks} szelektív gátló szerének bizonyult (IC_{50} : 10–5–30 μ M) gátolta (25, 26). Jelen tanulmányunkban, hasonlóan korábbi eredményeinkhez (15), az I_{Ks} -gátló alkalmazott dózisa nem okozott az EKG-felvételen tetten érhető repolarizáció megnyúlást (1. ábra). *In vivo* proaritmiás modellünk jelen munkánkban kivitelezett további validálásához a proaritmiás vizsgálatokban használtos ciszapridot használtuk fel (27). A ciszaprid egy benzamid származék prokinetikum (28), amelyet TdP-t, palpitations, QT-intervallumot nyújtó mellékhatásai miatt számos országban kivontak a forgalomból (29, 30). A repolarizáció nyújtó hatást a ciszaprid hERG-áramgátló hatásának tulajdonítják (31). Jelen eredményeink szerint intakt repolarizációs tartalék mellett (1. csoport, csak ciszapriddal kezelt állatok) és szűkített repolarizációs rezerv mellett (2. csoport, HMR1556 előkezelt állatok) a ciszaprid hasonló mértékű QT_c -intervallum megnyúlást okozott (1. ábra). Ugyanakkor a repolarizációs tartalék I_{Ks} -gátlóval történt szűkítését követően alakult ki a legtöbb állatban gyógyszer indukálta TdP (4. ábra), és az STV_{QT} a legtöbb TdP-t indukáló kezelés után (de a TdP megjelenése előtt) volt a legmagasabb (3. ábra). Ezen eredmények megerősítik a korábbi megfigyelést, miszerint a QT_c -intervallum megnyúlásának mértéke nem jelzi előre a kialakuló ritmuszavarokat, illetve azok súlyosságát. Ezzel szemben az STV_{QT} megbízhatóbban jelezte a súlyos kamrai aritmiák kialakulását mind állatkísérletes (15, 23, 32, 33), mind klinikai körülmények között (34, 35). Egy érdekes tanulmány szerint a ciszaprid szívelégtelen nyulakból izolált

szíveken nagyobb mértékben fokozta a TdP előfordulását, mint egészséges nyulakból izolált szíveken (36). A szívelégtelenségben fellépő strukturális átépülés („remodelling”) mellett a szívelégtelen betegek fokozott ritmuszavar érzékenységeért felelőssé tett elektromos remodelling részeként az I_{Ks} -csatorna expressziójának jelentős csökkenését mutatták ki, amely így hozzájárul a repolarizációs tartalék csökkenéséhez a fenti betegeken (21). Így a szívelégtelen nyúl a kamrai ritmuszavarok iránt érzékeny egyik betegpopulációt reprezentáló proaritmiás modellként jöhet szóba (36).

Felmerül a kérdés, hogy az I_{Ks} -gátló előkezelést követően miért csak a ciszaprid kisebb dózisa fokozta a TdP előfordulását, hiszen a nagyobb dózisok esetén az incidenciája csak 20% volt jelen kísérleteinkben (4. ábra). Ismert, hogy a ciszaprid nagyobb dózisa a kisebb dózis mellett jelentkező I_{Kr} -gátló hatás mellett már más ionáramokat, így az L-típusú kalciumáramot ($I_{Ca,L}$) is gátolja (37). Az $I_{Ca,L}$ -gátló szerepe viszont alkalmasak a TdP megszüntetésére, míg az $I_{Ca,L}$ inaktivációjának akadályozása jelentős proaritmiás hatáshoz vezet (38). Így feltehető, hogy nagyobb dózisban, amikor a ciszaprid több ioncsatornát gátló hatásai egyidejűleg álltak fenn, akkor a proaritmiás hatás mellett jelen kísérleteinkben „antiaritmiás” hatások is érvényesültek.

Következtetések

Jelen tanulmány szerint a repolarizációs tartalék létrehozásában kulcsszerepet játszó I_{Ks} -áram akut farmakológiai gátlása altatott nyulakon fokozza a kamrai ritmuszavarok iránti érzékenységet. Csökkent repolarizációs rezerv mellett ebben a modellben a proaritmiás mellékhatásai miatt gyógyszerforgalomból kivont ciszaprid fokozta a kamrai aritmiák, köztük a TdP előfordulási gyakoriságát, és a fokozott ritmuszavar incidenciát a QT-intervallum rövidtávú variabilitásának szignifikáns emelkedése előzte meg. Ennek megfelelően eredményeink támogatják a proaritmiás kockázat felmérésére során az STV_{QT} -paraméter meghatározását a hagyományos EKG-paraméterek tanulmányozásán felül.

Köszönetnyilvánítás

Jelen munka a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (OTKA NN-110896, és GI-NOP-2.3.2-15-2016-00047), a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült. Továbbá, a kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg (B.I.). Megkülönböztetett köszönetünket szeretnénk kifejezni Papp Gyula akadémikus Úrnak, aki a jelen dolgozat szerzőinek pályáját messzemenően támogatta.

Irodalom

1. Farkas A, Nattel S. Minimizing Repolarization-Related Proarrhythmic Risk in Drug Development and Clinical Practice. *Drugs* 2010; 70: 573–603. doi: 10.2165/11535230-000000000-00000
2. Haverkamp W, Breithardt G, Camm AJ, et al. The potential for QT prolongation and pro-arrhythmia by non-anti-arrhythmic drugs: clinical and regulatory implications. Report on a Policy Conference of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 219–233. doi: 10.1016/S0008-6363(00)00119-X
3. Fenichel RR, Malik M, Antzelevitch C, et al. Drug-induced torsades de pointes and implications for drug development. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004; 15: 475–495. doi: 10.1046/j.1540-8167.2004.03534.x
4. ICH-S7B. International conference on harmonisation; guidance on S7B nonclinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals; availability. *Notes. Fed Regist* 2005; 70: 61133–61134. PMID: 16237859
5. ICH-E14. International conference on harmonisation: guidance on E14 clinical evaluation of QT/QT_c interval prolongation and proarrhythmic potential for non-antiarrhythmic drugs; availability. *Notes. Fed Regist* 2005; 70: 61134–61135. PMID: 16237860
6. Varró A, Baczkó I. Cardiac ventricular repolarization reserve: a principle for understanding drug-related proarrhythmic risk. *Br J Pharmacol* 2011; 164: 14–36. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01367.x
7. Mattioni TA, Zheutlin TA, Sarmiento JJ et al. Amiodarone in patients with previous drug-mediated torsade de pointes. Long-term safety and efficacy. *Ann. Intern Med.* 1989; 111: 574–580. doi: 10.7326/0003-4819-111-7-574
8. Hondeghem LM, Carlsson L, Duker G. Instability and triangulation of the action potential predict serious proarrhythmia, but action potential duration prolongation is antiarrhythmic. *Circulation* 2001; 103: 2004–2013. doi: 10.1161/01.CIR.103.15.2004
9. van Opstal JM, Schoenmakers M, Verduyn SC, et al. Chronic amiodarone evokes no torsade de pointes arrhythmias despite QT lengthening in an animal model of acquired long-QT syndrome. *Circulation* 2001; 104: 2722–2727. doi: 10.1161/hc4701.099579
10. Belardinelli L, Antzelevitch C, Vos MA. Assessing predictors of drug induced torsade de pointes. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24: 619–625. doi: 10.1016/j.tips.2003.10.002
11. Akar FG, Spragg DD, Tunin RS, et al. Mechanisms underlying conduction slowing and arrhythmogenesis in nonischemic dilated cardiomyopathy. *Circ Res* 2004; 95: 717–725. doi: 10.1161/01.RES.0000144125.61927.1c
12. Roden DM. Taking the idio out of idiosyncratic – predicting torsades de pointes. *Pacing Clin Electrophysiol* 1998; 21: 1029–1034. doi: 10.1111/j.1540-8159.1998.tb00148.x
13. Varró A, Baláti B, Jost N, et al. The role of the delayed rectifier component I_{Ks} in dog ventricular muscle and Purkinje fibre repolarization. *J Physiol* 2000; 523: 67–81. doi: 10.1111/j.1469-7793.2000.00067.x
14. Jost N, Virág L, Bitay M, et al. Restricting excessive cardiac action potential and QT prolongation: a vital role for I_{Ks} in human ventricular muscle. *Circulation* 2005; 112: 1392–1399. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.550111
15. Lengyel C, Varró A, Tábori 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: 941–951. doi: 10.1038/sj.bjp.0707297
16. Thomsen MB. Double pharmacological challenge on repolarization opens new avenues for drug safety research. *Br J Pharmacol* 2007; 151: 909–911. doi: 10.1038/sj.bjp.0707299
17. Farkas A, Batey AJ, Coker SJ. How to measure electrocardiographic QT interval in the anaesthetized rabbit. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2004; 50: 175–185. doi: 10.1016/j.vascn.2004.05.002
18. Batey AJ, Coker SJ. Proarrhythmic potential of halofantrine, terfenadine and clofilium in a modified in vivo model of torsade de pointes. *Br J Pharmacol* 2002; 135: 1003–1012. doi: 10.1038/sj.bjp.0704550
19. Curtis MJ, Hancox JC, Farkas A, et al. The Lambeth Conventions (II): guidelines for the study of animal and human ventricular and supraventricular arrhythmias. *Pharmacol Ther* 2013; 139: 213–248. doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.04.008
20. Brennan M, Palaniswami M, Kamen P. Do existing measures of Poincaré plot geometry reflect nonlinear features of heart rate variability? *IEEE Trans Biomed Eng* 2001; 48: 1342–1347. doi: 10.1109/10.959330
21. Nattel S, Maguy A, Le Bouder S, et al. Arrhythmogenic ion channel remodeling in the heart: heart failure, myocardial infarction, and atrial fibrillation. *Physiol Rev* 2007; 87: 425–456. doi: 10.1152/physrev.00014.2006
22. Baczkó I, Jost N, Virág L, et al. Rabbit models as tools for preclinical cardiac electrophysiological safety testing: Importance of repolarization reserve. *Prog Biophys Mol Biol* 2016; 121: 157–168. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2016.05.002
23. Major P, Baczkó I, Hiripi L, et al. A novel transgenic rabbit model with reduced repolarization reserve: long QT syndrome caused by a dominant-negative mutation of KCNE1 gene. *Br J Pharmacol* 2016; 173: 2046–2061. doi: 10.1111/bph.13500
24. Varkevisser R, Wijers SC, van der Heyden MA, et al. Beat-to-beat variability of repolarization as a new biomarker for proarrhythmia in vivo. *Heart Rhythm* 2012; 9: 1718–1726. doi: 10.1016/j.hrthm.2012.05.016
25. Gögelein H, Bruggemann A, Gerlach U, et al. Inhibition of IKs channels by HMR 1556. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2000; 362: 480–488. doi: 10.1007/s002100000284
26. Thomas GP, Gerlach U, Antzelevitch C. HMR 1556, a potent and selective blocker of slowly activating delayed rectifier potassium current. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 41: 140–147. doi: 10.1097/00005344-200301000-00018
27. Yamamoto W, Asakura K, Ando H, et al. Electrophysiological Characteristics of Human iPSC-Derived Cardiomyocytes for the Assessment of Drug-Induced Proarrhythmic Potential. *PLoS One* 2016; 11: e0167348. doi: 10.1371/journal.pone.0167348
28. Reboa G, Arnulfo G, Frascio M, et al. Colon motility and colono-anal reflexes in chronic idiopathic constipation. Effects of a novel enterokinetic agent cisapride. *Eur J Pharmacol* 1984; 26: 745–748. doi: 10.1007/BF00541936
29. Wysowski DK, Bacsanyi J. Cisapride and fatal arrhythmia. *N Engl J Med.* 1996; 335: 290–291. doi: 10.1056/NEJM199607253350416
30. Hennessy S, Leonard CE, Newcomb C et al. Cisapride and ventricular arrhythmia. *Br J Clin Pharmacol* 2008; 66: 375–385. doi: 10.1111/j.1365-2125.2008.03249.x
31. Mohammad S, Zhou Z, Gong Q, et al. Blockage of the HERG human cardiac K⁺-channel by the gastrointestinal prokinetic agent cisapride. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1997; 273: H2534–2538. PMID: 9374794
32. Thomsen MB, Verduyn SC, Stengl M et al. Increased short-term variability of repolarization predicts d-sotalol-induced torsades de pointes in dogs. *Circulation* 2004; 110: 2453–2459. doi: 10.1161/01.CIR.0000145162.64183.C8
33. Husti Z, Tábori K, Juhász V, et al. 2015. Combined inhibition of key potassium currents has different effects on cardiac repolarization reserve and arrhythmia susceptibility in dogs and rabbits. *Can J Physiol Pharmacol* 2015; 93: 535–544. doi: 10.1139/cjpp-2014-0514
34. Hinterseer M, Beckmann BM, Thomsen MB, et al. Relation of increased short-term variability of QT interval to congenital long-QT syndrome. *Am J Cardiol* 2009; 103: 1244–1248. doi: 10.1016/j.amjcard.2009.01.011
35. Hinterseer M, Beckmann BM, Thomsen MB, et al. Usefulness of short-term variability of QT intervals as a predictor for electrical remodeling and proarrhythmia in patients with nonischemic heart failure. *Am J Cardiol* 2010; 106: 216–220. doi: 10.1016/j.amjcard.2010.02.033
36. Kijawornrat A, Nishijima Y, Roche BM, et al. Use of a failing rabbit heart as a model to predict torsadogenicity. *Toxicol Sci* 2006; 93: 205–212. doi: 10.1093/toxsci/kfl025
37. Chiang CE, Wang TM, Luk HN. Inhibition of L-type Ca²⁺ current in Guinea pig ventricular myocytes by cisapride. *J Biomed Sci* 2004; 11: 303–314. doi: 10.1159/000077098
38. Kim JG, Sung DJ, Kim HJ, et al. Impaired Inactivation of L-Type Ca²⁺ Current as a Potential Mechanism for Variable Arrhythmogenic Liability of HERG K⁺ Channel Blocking Drugs. *PLoS One* 2016; 11: e0149198. doi: 10.1371/journal.pone.0149198