

A repolarizációs tartalék farmakológiai gyengítése növeli a rövid távú QT-variabilitást és a Torsades de Pointes ritmuszavar előfordulását

Baczkó István

Szegedi Tudományegyetem,
Farmakológiai és
Farmakoterápiai Intézet,
Szeged

Levelezési cím:

Dr. Baczkó István
6720 Szeged, Dóm tér 12.
Telefon: (06-62) 546-109
Fax: (06-62) 545-680
E-mail:
ibaczk@phcol.szote.u-szeged.hu

Kulcsszavak:

repolarizációs tartalék;
QT-intervallum; Torsades de
Pointes; rövid távú variabilitás

Keywords:

repolarization reserve; QT interval;
Torsades de Pointes; short-term
variability

Célkitűzés: A fejlesztés alatt álló gyógyszerek proaritmias mellékhatásainak megbízható előrejelzése jelenleg nem kielégítő. Jelen munkánkban azt vizsgáltuk, hogy a rövid távú QT-intervallum-variabilitás megbízhatóbban jelzi-e a Torsades de Pointes (TdP) kialakulását, mint a QT_c -intervallum megnyúlása farmakológiai úton csökkentett repolarizációs tartalékú nyúl proaritmia modellen.

Módszerek: Altatott nyulaknak az I_{Kr} -gátló dofetilidet, az I_{Ks} -gátló HMR 1556-ot és a két szer kombinációját adagoltuk intravénásan. A regisztrált elektrokardiogramon a PQ, RR és QT-intervallumokat mértük, a QT_c -intervallum, az RR- és QT-intervallumok rövid távú variabilitás értékeit számítottuk (STV_{RR} és STV_{QT}).

Eredmények: A HMR 1556 nem változtatta meg, míg a dofetilid szignifikánsan növelte a QT_c -intervallumot, és mérsékelten növelte az STV_{QT} értékét. A HMR 1556 adagolása egy állatban sem, a dofetilid az állatok 29%-ában hozott létre TdP-t. A HMR 1556+dofetilid kombináció jelentősen növelte a QT_c , STV_{QT} -értékeket és a TdP előfordulási gyakoriságát (82%).

Következtetések: Az I_{Kr} és I_{Ks} kombinált farmakológiai gátlása jelentősen növeli a QT-intervallum rövid távú variabilitását, amely jobb előrejelzője lehet a TdP kialakulásának, mint a QT_c -intervallum megnyúlása.

Pharmacologically impaired repolarization reserve increases short-term QT variability and induces Torsades de Pointes.

Objective: Our current ability to predict the proarrhythmic potential of compounds during drug development remains unsatisfactory. We investigated whether the short-term variability of the QT interval was a better predictor for Torsades de Pointes (TdP) development than QT_c interval prolongation in our rabbit proarrhythmia model with pharmacologically impaired repolarization reserve.

Methods: Anaesthetized rabbits were administered the I_{Kr} blocker dofetilide, the I_{Ks} blocker HMR 1556 and their combination, intravenously. The PQ, RR and QT intervals were measured, the QT_c and short-term variability of the RR and QT intervals (STV_{RR} and STV_{QT}) were calculated from the recorded ECGs.

Results: HMR 1556 administration did not change, while dofetilide significantly increased QT_c interval and moderately increased STV_{QT} . No TdP was observed following HMR 1556 administration, dofetilide induced TdP in 29% of animals. The combination of HMR 1556+dofetilid markedly increased QT_c , STV_{QT} and the incidence of TdP (82%).

Conclusions: Combined pharmacological block of I_{Kr} and I_{Ks} increases short-term QT interval variability that may be a superior predictor of TdP development compared to QT_c interval prolongation.

Számos kardiovaszkuláris és nem-kardiovaszkuláris S szer alkalmazása következtében alakulhat ki Torsade de Pointes (TdP) polimorf kamrai tachycardia, ami kedvezőtlen esetben kamrafibrillációhoz és hirtelen szívhalálhoz vezethet (1). A TdP kialakulásáért általában az abnormális szívizom-repolarizációt tartják felelősnek, amely gyakran, de nem minden esetben jár a QT-intervallum előzetes megnyúlásával. A TdP kialakulásának előrejelzése a klinikai gyakorlatban igen nehéz feladat, hiszen a gyógyszer indukálta TdP előfordulási gyakorisága meglehetősen alacsony (1:100.000), és ezen esetekben sem mindig figyelhető meg a QT-intervallum egyértelmű változása. A legújabb kutatások szerint a QT-intervallum megnyúlása nem képes megbízhatóan előre jelezni a TdP kialakulását, mivel a repolarizációs tartalék beszűkülése végbemehet a szívizomzat repolarizációs időtartamának jelentős változása nélkül is. A repolarizációs tartalék fogalmát először Roden javasolta (2), amely a kardiális repolarizációért felelős mechanizmusok összetettségére utal. Egyikük funkcionális károsodása nem feltétlenül vezet klinikailag manifeszt repolarizációs zavarhoz, de sebezhetőbbé teszi a myocardiumot az aritmiák kifejlődésével szemben (2, 3, 4). A közelmúlt eredményei alapján úgy tűnik, hogy a TdP kialakulásának kedvező körülményeket helyesebb lenne „beszűkült repolarizációs tartalék” kifejezéssel definiálni az egyszerűbb „megnyúlt repolarizáció” helyett.

A gyógyszer indukálta TdP-modellek egyik legegyszerűségebbja a krónikus atrioventricularis blokkos kutya modell (5, 6). Ezen állatok kamraizomzatában a káliumcsatornák, főként a késői egyenirányító káliumcsatorna lassú komponense (I_{Ks}) denzitáscsökkenése figyelhető meg („downregulation”), amely alapvető szerepet játszhat az aritmiák kifejlődésében (7). Az I_{Ks} csökkenése önmagában, szimpatikus stimuláció nélkül nem befolyásolja a kutya, nyúl és humán izolált kamrai izom repolarizációját, de valószínűleg a repolarizációs tartalék fontos részeként jelentősen hozzájárul a repolarizációs biztonságához (8, 9, 10, 11, 12).

Az amiodaron jelentősen nyújtja a QT_c -intervallumot, de nem növeli lényegesen a TdP előfordulását krónikus AV-blokk kutya modellen, hasonlóan a humán megfigyelésekhez (13). Ugyanezen a modellen megfigyelték, hogy az aritmiák előfordulása korrelációt mutatott a repolarizáció rövid távú variabilitásának mértékével (14).

A Carlsson és munkatársai (15) által létrehozott TdP-modell bevezetése óta a nyúl az egyik leggyakrabban használt species a gyógyszer indukálta proaritmiás mellékhatások tanulmányozására. A krónikus AV-blokkos kutya modellen az I_{Ks} „downregulálódik”, és a további I_{Kr} -gátlás a TdP előfordulási gyakoriságát növeli. Fentiek alapján kísérleteink célja a késői egyenirányító kálium áram gyors (I_{Kr}) és lassú (I_{Ks}) komponen-

sének kombinált farmakológiai gátlásának TdP kialakulására, repolarizációra és a repolarizáció rövid távú variabilitására kifejtett hatásának vizsgálata altatott nyúlon.

Módszerek

Altatott nyúl TdP-modell

Kísérleteinket hím, új-zélandi fehér nyulakon végeztük (2-3 kg), amelyeket a jobb fül marginális vénájába adagolt tiopentállal (50 mg/kg iv.) altatunk. A bal arteria carotist az artériás vérnyomás mérése, a jobb vena jugularist intravénás anyagbeadás céljából kanüláltuk. Az alapértékeket húszperces stabilizálódási periódus után mértük. Az első csoport 25 μ g/kg dofetilidet kapott 2 ml/kg térfogatban, 5 perces folyamatos infúzió formájában (Terufusion TE-3, Terumo Europe, Leuven, Belgium), majd 20 perces várakozási idő után 0,1 mg/kg HMR 1556 kezelést kaptak. A második csoport 0,1 mg/kg HMR 1556 kezelést követően 25 μ g/kg dofetilidet kapott, 20 perccel a HMR 1556 kezelés után. Az artériás vérnyomást és az EKG-t (I-III. elvezetés) folyamatosan regisztráltuk és számítógépen tároltuk (National Instruments, Austin, TX, USA és SPEL Advanced Haemosys v2.7, Experimetria Kft., Budapest). Az RR- és QT-intervallumokat 30 egymást követő ütés átlagaként számoltuk (minimális ütésszám, ami egy intervallum rövid távú variabilitásának számításához szükséges). A QT-intervallumok mérésénél a Farkas és munkatársai (16) által altatott nyulakra megadott irányelveket követtük. A nyulak szívfrekvenciája az emberekénél jelentősen gyorsabb, így a QT_c számításánál a Bazett-formula nem tükrözi pontosan a QT-intervallum frekvenciafüggő változásait. Ezért a QT_c számításához a Batey és Coker (17) által speciálisan altatott nyulakra kidolgozott formulát alkalmaztuk: $QT_c = QT - [0,704 \cdot (RR - 250)]$.

A plazma káliumkoncentrációjának meghatározásához vérmintát vettünk az állatoktól közvetlenül anyagbeadás előtt.

Az RR- és a QT-intervallum rövid távú variabilitása (STV_{RR} és STV_{QT})

A beat-to-beat szívfrekvencia és repolarizáció instabilitásának jellemzésére elkészítettük az RR- és QT-intervallumok Poincaré ábrázolását, ahol minden egyes RR- és QT-értéket a megelőző érték függvényében ábrázoltunk. A Poincaré ábrák 30 egymást követő intervallum mérési eredményeit reprezentálják sinusritmusban, adott kísérleti időpontban. Kombinált I_{Ks} - és I_{Kr} -gátlás esetén rendszerint TdP alakult ki, ebben az esetben a TdP kialakulását megelőzően végeztük a méréseket. Az STV_{RR} és STV_{QT} értékeit a következő képlet segítségével számítottuk ki:

$STV = \sum |D_{n+1} - D_n| (30 \times \sqrt{2})^{-1}$, ahol D a QT vagy az RR-intervallum időtartama.

Az RR- és QT-intervallum instabilitás jellemzése a Poincaré-térkép kvalitatív és kvantitatív analizésén alapszik (18).

Statisztikai analízis

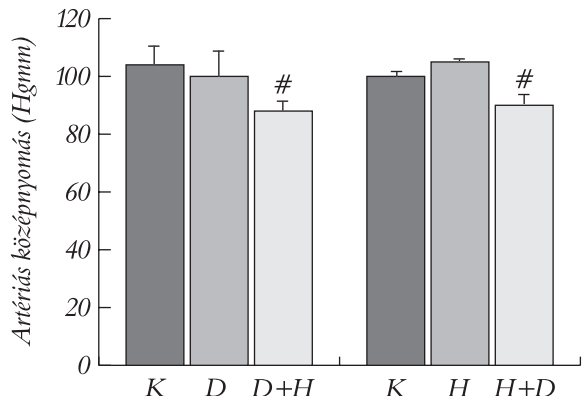
Az aritmiák előfordulási gyakoriságának (%) összehasonlítására a χ^2 -tesztet használtuk. Minden más értéket $\text{átlag} \pm \text{SEM}$ formában adtuk meg. Varianciaanalízis után a csoportokat páronként a kétmintás Student t-teszt segítségével hasonlítottuk össze. A statisztikai szignifikancia elfogadott határértéke $p < 0,05$ volt.

Felhasznált anyagok

A HMR 1556-ot (Aventis Pharma, Frankfurt am Main, Németország) dimetil-szulfoxidban (0,1%) oldottuk, és 10 μM -os törzsoldatot készítettünk. A dofetilidet (Richter Gedeon Nyrt., Budapest) szintén dimetil-szulfoxidban oldottuk, és 5 μM -os törzsoldatot készítettünk. A törzsoldatok hígítása közvetlenül a kísérletek előtt történt.

Eredmények

A kálium plazmakoncentrációt minden állatban meghatároztuk közvetlenül anyagbeadás előtt, hiszen jelentősen befolyásolhatja a TdP előfordulását. A két csoportban mért értékek között nem volt különbség, átlagban a kálium plazmakoncentráció $3,5 \pm 0,21$ mM volt.

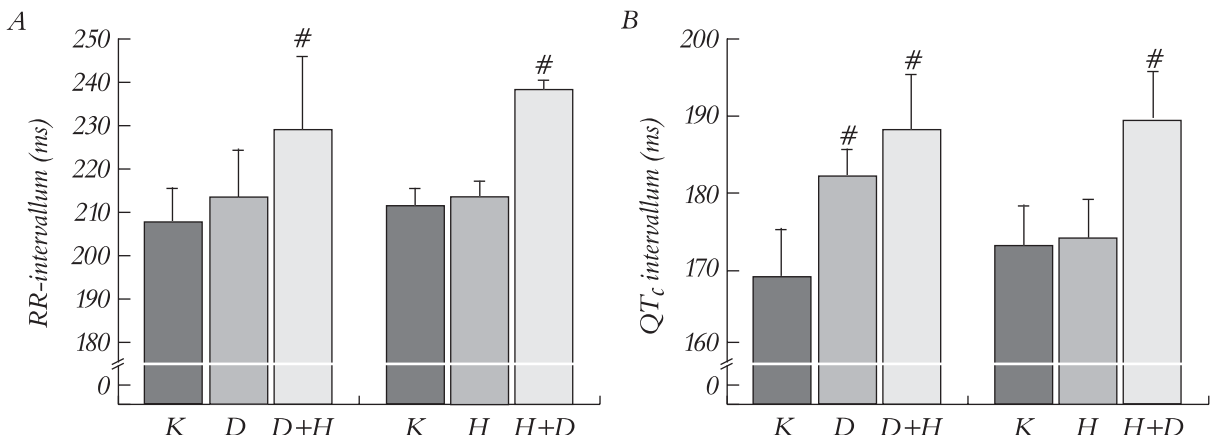


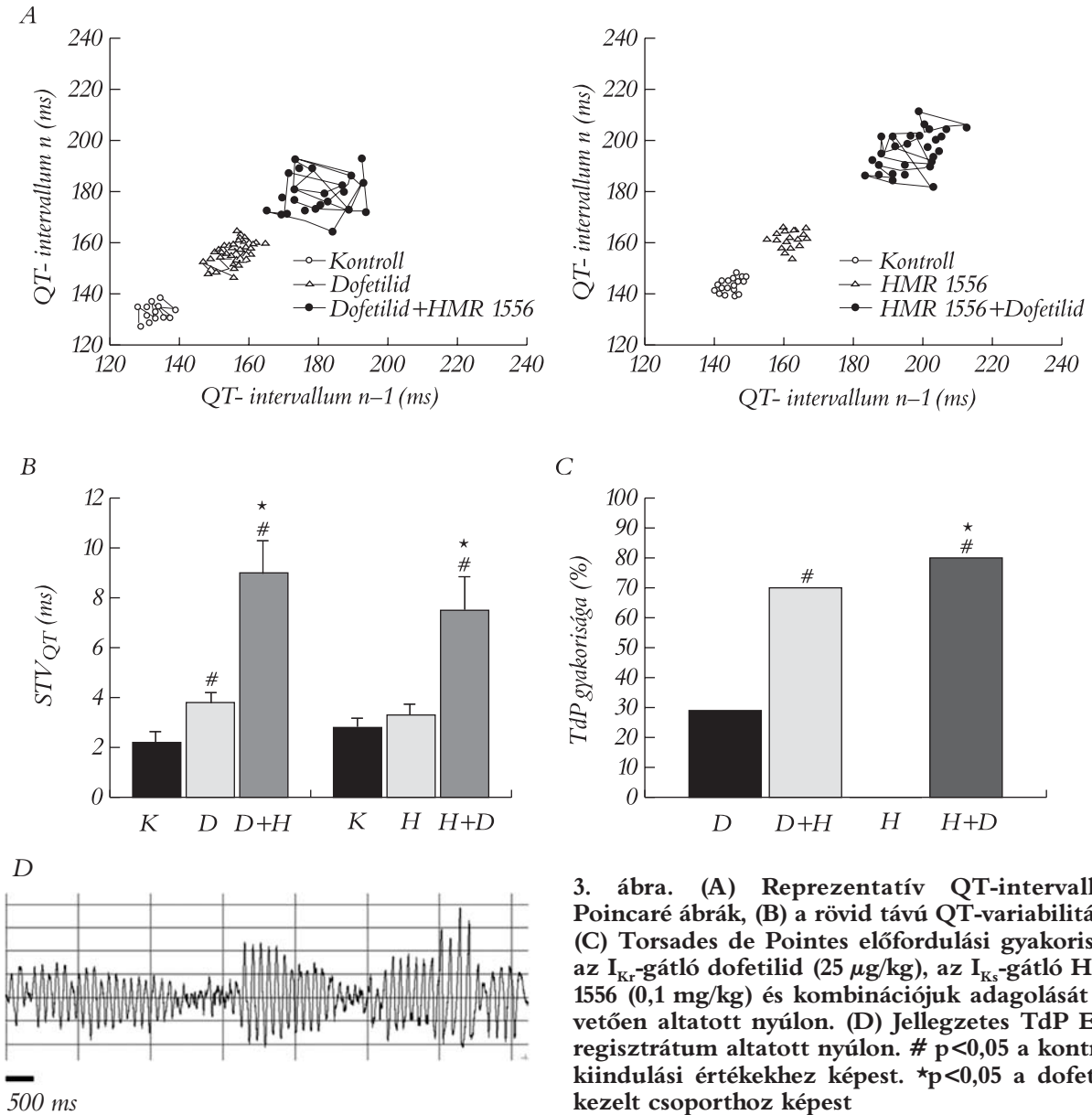
1. ábra. Az I_{Kr} -gátló dofetilid (25 $\mu\text{g}/\text{kg}$), az I_{Ks} -gátló HMR 1556 (0,1 mg/kg) és kombinációjuk hatása artériás középnyomásra altatott nyúlón ($n=7-10$). K: kontroll, D: dofetilid, H: HMR 1556, D+H: dofetilid+HMR 1556, H+D: HMR 1556+dofetilid. # $p < 0,05$ a kontroll, kiindulási értékekhez képest

Az I_{Kr} -, I_{Ks} -gátlás és kombinációjuk hatása a vérnyomásra, szívfrekvenciára és QT_c-intervallumra altatott nyulakon

Az artériás középnyomás nem változott sem dofetilid (25 $\mu\text{g}/\text{kg}$) sem HMR 1556 (0,1 mg/kg) adására (1. ábra). A két szer kombinációja azonban szignifikánsan csökkentette az artériás középnyomást függetlenül attól, hogy a két szer beadása milyen sorrendben történt (1. ábra). A szívfrekvencia alapértékei között nem volt eltérés a két csoport között ($288 \pm 16,2$ és $285 \pm 8,9$ ütés/perc, $p > 0,05$). A dofetilid és HMR 1556 önmagában nem csökkentette a szívfrekvenciát (2. A ábra),

2. ábra. Az I_{Kr} -gátló dofetilid (25 $\mu\text{g}/\text{kg}$), az I_{Ks} -gátló HMR 1556 (0,1 mg/kg) és kombinációjuk hatása az (A) RR és (B) QT_c-intervallumokra altatott nyúlón ($n=7-10$). K: kontroll, D: dofetilid, H: HMR 1556, D+H: dofetilid+HMR 1556, H+D: HMR 1556+dofetilid. # $p < 0,05$ a kontroll, kiindulási értékekhez képest





azonban kombinációjuk szignifikáns RR-intervallum-növekedést hozott létre a beadás sorrendjétől függetlenül (2. A ábra). A várakozásoknak megfelelően az I_{Kr} -gátló dofetilid szignifikánsan nyújtotta a QT_c -intervallumot, míg az I_{Ks} -blokkoló HMR 1556 nem okozott repolarizáció megnyúlást (2. B ábra). A két szer kombinációja jelentősen nyújtotta a QT_c -intervallumot a beadás sorrendjétől függetlenül (2. B ábra).

Az I_{Kr} -, I_{Ks} -gátlás és kombinációjuk hatása a szívfrekvencia és a repolarizáció instabilitására altatott nyúlakon

A 3. A ábra a QT-intervallum reprézantív Poincaré ábrázolása a két csoport egy-egy állatában. Az ábrán a

jobbra és felfelé való értékeltolódás repolarizáció megnyúlást, a pontok „szóródásának” megnövekedése a variabilitás fokozódását jelzi. A dofetilid önmagában mérsékelt STV_{QT} -növekedést okozott (3. A és B ábra). A HMR 1556 az STV_{QT} értékét nem változtatta meg, míg a két szer kombinációja a beadás sorrendjétől függetlenül jelentősen fokozta az STV_{QT} -t (3. A és B ábra). A dofetilid önmagában hét állatból kettőben provokált TdP-t, ugyanakkor nem figyelhetünk meg TdP-t a HMR 1556 beadása után (3. C ábra). A dofetilid és HMR 1556 kombináció (bármely sorrendben adva) szignifikánsan növelte a TdP előfordulását (3. C ábra). Fontos kiemelni, hogy az STV_{QT} növekedése párhuzamosságot mutatott a TdP előfordulási gyakoriságával (3. A–C ábra).

Az STV_{RR} értékét a dofetilid és HMR 1556 önmagában nem változtatta meg, a két szer kombinációja szignifikánsan növelte azt (kontroll: $0,74 \pm 0,09$ ms, dofetilid+HMR 1556: $1,31 \pm 0,22$ ms; kontroll: $0,7 \pm 0,1$ ms, HMR 1556+dofetilid: $1,08 \pm 0,19$ ms, $p < 0,05$ mindkét esetben).

Megbeszélés

Az I_{Ks} gátlása: repolarizációs tartalék beszűkítése farmakológiai úton

Jelen tanulmányunk egyik fő célja a repolarizációs tartaléknak a patológiás körülmények közötti beszűküléséhez hasonló farmakológiai károsítása volt. Így munkánkban az I_{Ks} - és I_{Kr} -áramok önálló, valamint kombinált farmakológiai gátlásának a repolarizációra, a repolarizáció instabilitására és a TdP kialakulására kifejtett hatását vizsgáltuk. Ennek megfelelően az I_{Ks} és I_{Kr} szelektív gátlása alapvető fontosságú volt, amit sorrendben a HMR 1556 (19) és dofetilid (20) alkalmazásával értünk el. A HMR 1556 I_{Ks} -áramra vonatkozó IC_{50} értéke 10-50 nM. Az I_{Kr} , I_{to} , $I_{Ca,L}$ áramokat sokkal magasabb koncentrációban (10-30 μ M) gátolja, és az I_{Kr} -áramra nincs hatással még 50 μ M koncentrációban sem (21).

Eredményeink szerint, amelyek jól korrelálnak korábbi tanulmányok eredményeivel, az I_{Kr} -gátlás, és nem az I_{Ks} -gátlás nyújtja a kamrai repolarizációt számottevő mértékben. Az I_{Ks} blokkolása nem nyújtotta a QT_c -intervallumot, az akciós potenciál (9) és a monofázisos akciós potenciál hosszát nyílon (22). Jelen tanulmányban a HMR 1556 nem okozott szignifikáns QT_c -megnyúlást (1-2%). Ugyanakkor egy közelmúltban publikált vizsgálat szerint a HMR 1556 éber kutyákban jelentősen nyújtotta a QT_c -intervallumot (10). Kiemelendő azonban, hogy ez a hatás 3 órával 30 mg/kg per os HMR 1556 adagolást követően lépett fel, ami 2,68 μ M maximális plazmakoncentrációt eredményezett. Ez a koncentráció jelentősen meghaladja a HMR 1556 I_{Ks} -áramra vonatkozó IC_{50} értékét (10-50 nM), ezért a HMR 1556 más káliumcsatornákra kifejtett hatása *Volders és munkatársai* (10) vizsgálatában nem zárható ki. Emellett az orális adagolást követő HMR 1556 metabolitok kialakulása is elképzelhető.

Jelen eredményeink rámutatnak, hogy az általunk használt in vivo modell, amelyben az I_{Ks} farmakológiai gátlásával a repolarizációs tartalék súlyosan károsodik, alkalmas különböző szerek potenciális TdP provokáló mellékhatásának tesztelésére.

A QT -intervallum instabilitása előrejelzi a TdP kialakulását

Az elmúlt években több különböző elektrofiziológiai paramétert javasoltak a gyógyszer indukálta életveszély-

es ritmuszavarok predikciójára, úgymint a QT - és QT_c -intervallum megnyúlása, a repolarizáció térbeli inhomogenitása (23, 24, 25). A fenti paraméterek prediktív értéke alacsony, ezért új, érzékenyebb módszerek kidolgozása szükséges.

Tanulmányunkban az I_{Kr} -gátló dofetilid jelentősen nyújtotta a QT_c -intervallumot, de csak kismértékben fokozta az STV_{QT} -t és a TdP előfordulási gyakoriságát. Eredményeink alátámasztják néhány korábbi vizsgálat felvetéseit, miszerint a proaritmiás hajlam a repolarizáció térbeli inhomogenitása mellett annak időbeli diszperziójával is összefügg (26, 27), és jól korrelálnak *Thomsen és munkatársai* (14) eredményeivel, akik AV-blokkos kutyákban kimutatták, hogy nem a QT_c megnyúlása, hanem a QT -intervallum rövid távú variabilitásának növekedése jelezte hatékonyan előre a TdP kialakulását. Ezek a megfigyelések emlékeztetnek a MADIT II tanulmány megállapításaira, melyek szerint bal kamrai diszfunkciós posztinfarktuszos betegekben a QT -variabilitás növekedése fokozott kamrai tachycardiával és fibrillációval mutatott összefüggést (28).

Elméletileg a megnyúlt QT -intervallum önmagában is fokozhatja az STV_{QT} értékét kísérletes körülmények között. *Thomsen és munkatársai* kimutatták (29), hogy hosszabb ingerlési ciklushossznál mind a monofázisos akciós potenciál és annak rövid távú variabilitása megnőtt altatott kutyában.

Ugyanakkor 700 és 1200 ms közötti ingerlési ciklushossznál ez az STV -növekedés mindössze 0,5 ms volt. Kísérleteinkben ilyen mértékű szívfrekvencia-lassulást nem tapasztaltunk, és az STV_{QT} több mint 100%-kal nőtt. Így a jelen munkában tapasztalt mérsékelt szívfrekvencia-csökkenés kombinált I_{Kr} - és I_{Ks} -gátlást követően csak kismértékben járulhatott hozzá az STV_{QT} növekedéséhez.

A repolarizáció rövid távú variabilitása növekedéséért felelős celluláris mechanizmusok nem ismertek, de szoros kapcsolatot mutatnak a rendelkezésre álló repolarizációs tartalékkal. Az I_{Ks} , amely fiziológiai körülmények között kis mértékben járul hozzá a repolarizációhoz, kulcsfontosságú szerepet tölthet be a repolarizációs tartalék fenntartásában. Az I_{Ks} jelen tanulmányban létrehozott farmakológiai gátlása, az áram „downregulációja” (14), és a következetes STV_{QT} -növekedés kiemelten hangsúlyozza az I_{Ks} repolarizációs tartalék létrehozásában játszott szerepét.

Következtetések

Jelen tanulmány szerint a TdP-aritmia kialakulását az STV_{QT} növekedése előzi meg, amely a konvencionálisan használt paramétereknél hatékonyabban jelezheti az egyes gyógyszerek adagolását kísérő proaritmiás kockázat emelkedését fokozott kockázatú, csökkent repolarizációs tartalékkal rendelkező betegeken.

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Tábory Katalinnak a kísérletek során nyújtott segítséget, valamint Heinz Gögeleinnek (Aventis

Pharma, Frankfurt am Main, Németország), hogy biztosította számunkra a HMR-1556 vegyületet. Jelen munka az Egészségügyi Minisztérium (ETT 360/2006) támogatásával készült.

Irodalom

1. Fenichel RR, Malik M, Antzelevitch C, et al. Drug-induced torsades de pointes and implications for drug development. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004; 15: 475–95.
2. Roden DM. Taking the idio out of idiosyncratic – predicting torsades de pointes. *Pacing Clin Electrophysiol* 1998; 21: 1029–34.
3. Roden DM, Yang T. Protecting the heart against arrhythmias: potassium current physiology and repolarization reserve. *Circulation* 2005; 112: 1376–8.
4. Varró A, Papp JG. Low penetrance, subclinical congenital LQTS: concealed LQTS or silent LQTS? *Cardiovasc Res* 2006; 70: 404–6.
5. Chezalviel-Guilbert F, Davy JM, Poirier JM, Weissenburger J. Mexiletine antagonizes effects of sotalol on QT interval duration and its proarrhythmic effects in a canine model of torsade de pointes. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 787–92.
6. Vos MA, Verduyn SC, Gorgels AP, et al. Reproducible induction of early afterdepolarizations and torsade de pointes arrhythmias by d-sotalol and pacing in dogs with chronic atrioventricular block. *Circulation* 1995; 91: 864–72.
7. Volders PG, Sipido KR, Vos MA, et al. Downregulation of delayed rectifier K⁺ currents in dogs with chronic complete atrioventricular block and acquired Torsades de Pointes. *Circulation* 1999; 100: 2455–61.
8. Varró A, Baláti B, Iost 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.
9. Lengyel Cs, Jost N, Virág L, et al. Pharmacological block of the slow component of the outward delayed rectifier current (I_{Ks}) fails to lengthen rabbit ventricular muscle Q_{Tc} and action potential duration. *Br J Pharmacol* 2001; 132: 101–10.
10. Volders PG, Stengl M, van Opstal JM, et al. Probing the contribution of I_{Ks} to canine ventricular repolarization: key role for β-adrenergic receptor stimulation. *Circulation* 2003; 107: 2753–60.
11. 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: 1392–9.
12. Abi-Gerges N, Small BG, Lawrence CL, et al. Gender differences in the slow delayed (I_{Ks}) but not in inward (I_{K1}) rectifier K⁺ currents of canine Purkinje fibre cardiac action potential: key roles for I_{Ks}, beta-adrenoceptor stimulation, pacing rate and gender. *Br J Pharmacol* 2006; 147: 653–60.
13. 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: 2722–7.
14. 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: 2453–9.
15. Carlsson L, Almgren O, Duker G. QTU-prolongation and torsades de pointes induced by putative class III antiarrhythmic agents in the rabbit: etiology and interventions. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 16: 276–85.
16. Farkas A, Batey AJ, Coker SJ. How to measure electrocardiographic QT interval in the anaesthetized rabbit. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2004; 50: 175–85.
17. 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: 1003–12.
18. 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: 1342–7.
19. Gögelein H, Bruggemann A, Gerlach U, et al. Inhibition of IKs channels by HMR 1556. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2000; 362: 480–8.
20. Rasmussen HS, Allen MJ, Blackburn KJ, et al. Dofetilide, a novel class III antiarrhythmic agent. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20 (Suppl 2): S96–105.
21. 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: 140–7.
22. So PP, Hu XD, Backx PH, et al. Blockade of I_{Ks} by HMR 1556 increases the reverse rate-dependence of refractoriness prolongation by dofetilide in isolated rabbit ventricles. *Br J Pharmacol* 2006; 148: 255–63.
23. Verduyn SC, Vos MA, van der Zande J, et al. Further observations to elucidate the role of interventricular dispersion of repolarization and early after depolarizations in the genesis of acquired torsade de pointes arrhythmias: a comparison between almokalant and d-sotalol using the dog as its own control. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 1575–84.
24. Belardinelli L, Antzelevitch C, Vos MA. Assessing predictors of drug-induced torsade de pointes. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24: 619–25.
25. Kaab S, Hinterseer M, Nabauer M, et al. Sotalol testing unmasks altered repolarization in patients with suspected acquired long-QT-syndrome—a case-control pilot study using iv. sotalol. *Eur Heart J* 2003; 24: 649–57.
26. Berger RD, Kasper EK, Baughman KL, et al. Beat-to-beat QT interval variability: novel evidence for repolarization lability in ischemic and nonischemic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1997; 96: 1557–65.
27. Hondeghem LM, Dujardin K, De Clerck F. Phase 2 prolongation, in the absence of instability and triangulation, antagonizes class III proarrhythmia. *Cardiovasc Res* 2001; 50: 345–53.
28. Moss AJ, Cannom DS, Daubert JP, et al. for the MADIT II Investigators. Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial II (MADIT II): design and clinical protocol. *Ann Non-invasive Electrocardiol* 1999; 4: 83–91.
29. Thomsen MB, Volders PG, Beekman JDM, et al. Beat-to-beat variability of repolarization determines proarrhythmic outcome in dogs susceptible to drug-induced torsades de pointes. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1268–76.