

**ANTIARITMIÁS SZEREK ELEKTROFARMAKOLÓGIAI HATÁSAINAK
SZÁMITÓGÉPES ELEMZÉSE**

Doktori Értekezés

Készült a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem
Gyógyszertani Intézetében

Készítette

Hála Ottó egyetemi tanársegéd

Témavezető

Dr. Papp Gyula
az orvostudományok doktora
egyetemi tanár
a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem
Gyógyszertani Intézetének igazgatója

Szeged

1992



B 516



E 3.907



TARTALOMJEGYZÉK

	<i>Oldal</i>
1./ Előszó	7
2./ Számítástechnika és szívelektrofiziológia	8
2.1./ A szívelektrofiziológia és a számítástechnika párhuzamos fejlődése a 70-es évek végéig	10
2.2./ Elterjedt hardver-megoldások	12
2.3./ Program-nyelvek	15
2.4./ Számítógépes modellezés a szívelektrofiziológiában	20
3./ Az antiaritmiás szerek osztályozása	24
4./ Az antiaritmiás hatás-vizsgálat elektrofiziológiai paraméterei ingerelt szívpreparátumokban	33
4.1./ A nyugalmi potenciál	33
4.1.1./ Aktív ionpumpák	33
4.1.1.1./ A Na^+/K^+ pumpa	33
4.1.1.2./ A Ca^{2+} pumpa	34
4.1.2./ A $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődési transzport	35
4.1.3./ A Cl^- megoszlás	36
4.1.4./ A nyugalmi potenciált meghatározó összefüggés	37
4.2./ A gyors Na-árammal kapcsolatos jellemzők	39
4.3./ A "lassú-válasz"	46
4.4./ A modulált-receptor hipotézis	49
4.5./ Az akciós potenciál időtartama	62

	<i>Oldal</i>
5./ Sajátfejlesztésű programok	65
5.1./ Az EDITOR modul	66
5.1.1./ Billentyűzet és idő-kezelés	66
5.1.1.1./ Típus	66
5.1.1.2./ Inicializálás	66
5.1.1.3./ A billentyűzet figyelése	67
5.1.2./ Menü kezelés	67
5.1.2.1./ Típus	67
5.1.2.2./ Inicializálás	68
5.1.2.3./ Menüpont kiválasztása	68
5.1.3./ Program-paraméterek és programváltozók bevitelére ill. módosítása	69
5.1.4./ Numerikus tömbök elemeinek bevitelére ill. átszerkesztése	69
5.1.4.1./ Konstans	69
5.1.4.2./ Típus	69
5.1.4.3./ Inicializálás	69
5.1.5./ Formula paraméterek bevitelére ill. módosítása	71
5.1.5.1./ Konstans	71
5.1.5.2./ Típus	71
5.1.5.3./ Inicializálás	71
5.1.6./ Könyvtár kezelés	72
5.1.7./ A monitor grafikus módba kapcsolása	73
5.1.8./ "Flag" típusú változók beállítása	74

	<i>Oldal</i>
5.2./ A TEK2230A transzmembrán potenciál kiértékelő program	74
5.2.1./ Indítás	74
5.2.2./ Programleírás	75
5.2.2.1./ Program-konfigurálás menüből	75
5.2.2.1.1./ Típus	77
5.2.2.1.2./ A kiértékelőprogram rendszerváltozói az inicializálás sorrendjében	78
5.2.2.2./ Az eredmény file kijelölése ill. átnevezése	79
5.2.2.3./ Magyarázatok, megjegyzések begépelése az eredmény file-ba	81
5.2.2.4./ Primér adatállomány (akvizíciós file) kijelölése	81
5.2.2.5./ Primér adat állományok tartalmának módosítása és újraelemzése	81
5.2.2.6./ Az RS-232 interface beállítása	84
5.2.2.7./ Az oszcilloszkóp direkt vezérlése	85
5.2.2.8./ Az "oszcilloszkóp-meghajtó" rutin	86
5.2.2.9./ Az oszcilloszkóp memóriák tartalmának másolása	87
5.2.2.10./ A memória paraméterek megadása az adatátvitelhez	88
5.2.2.11./ A jelsimítás vezérlése	89
5.2.2.12./ A jelsimító rutin	91
5.2.2.13./ A jel deriválása	92
5.2.2.14./ A deriváló rutin	92
5.2.2.15./ Az analízisfajta kijelölése	93
5.2.2.16./ A grafikus képernyő beállítása	95
5.2.2.17./ A rendszeróra nullázása	95
5.2.2.18./ Jel-beolvasás és -kiértékelés	95
5.2.2.19./ Kilépés a programból	95
5.2.3./ A jelanalizáló rutinok leírása	96
5.2.3.1./ Akciós potenciál analízis	96
5.2.3.2./ Csúcs kiválasztás	97
5.2.3.3./ Fázissík analízis	97

	Oldal
5.3./ A CURVEFIT többváltozós nem-lineáris görbeillesztő program	98
5.3.1./ Indítás	98
5.3.2./ Programleírás	98
5.3.2.1./ Adatállományok betöltése	98
5.3.2.2./ Az eredmények lemezre mentése	101
5.3.2.3./ Meglévő adatállományok tartalmának módosítása ill. új görbepontkoordináták bevitele a billentyűzetről	102
5.3.2.4./ Kifejezések begépelése ill. módosítása	103
5.3.2.4.1./ Az illesztendő kifejezések "futtatható" formátuma (Típus)	104
5.3.2.4.2./ A kódoló rutin	104
5.3.2.4.3./ Kódolt kifejezések "futtatása"	110
5.3.2.5./ Kezdeti-értékek megadása ill. az illesztett paraméterek megtekintése	113
5.3.2.6./ A görbeillesztés	115
5.3.2.6.1./ A Levenberg-Marquardt eljárás	116
5.3.2.6.2./ Az illesztett paraméterek standard deviációja	119
5.3.2.6.3./ A görbeillesztő szubrutin	120
5.3.2.7./ Az illesztett paraméterek alapján számított görbe és a mérési pontok kirajzolása	127
5.3.2.8./ Kilépés a CURVEFIT programból	128

	Oldal
6./ Egyéb felhasznált programok	129
7./ NAFTOPIDIL, VERAPAMIL és DILTIAZEM Ca-antagonista aktivitásának összehasonlító elemzése "lassú válasz" kísérletekben	130
7.1./ Módszer	130
7.2./ Eredmények	132
7.3./ Megbeszélés	141
8./ A KC-4965 jelzésű vegyület frekvencia-függő dV/dt_{max} gátlásának vizsgálata izolált nyúlszív preparátumokon	144
8.1./ Módszer	144
8.2./ Eredmények és következtetések	147
9./ A szerző előadásainak és közleményeinek teljes jegyzéke	155

1./ ELŐSZÓ

Az értekezés témájának megválasztása igen könnyű, - de egyben igen nehéz feladatot is jelentett. Egyrésztől nem volt kétséges, hogy a tartalom gerincét a napi kutatómunka során felmerülő, kényszerűségből vagy virtusból megoldott matematikai ill. számítástechnikai problémák ismertetése fogja képezni. (A "megoldott" alatt - sajnos - nem elvont, egyetemes érvényű, kinyilatkoztatás-szerű formulák megalkotását, levezetését jelenti; többnyire egyszerűen azt takarja, hogy az egyetemi évek alatt megalapozott, és azóta is fáradságos munkával továbbfejlesztett - bizony sok vonatkozásban bicegő - tudás birtokában sikerült rekonstruálnom a még oly alaposnak tűnő monográfiákban sem közölt levezetések.) Másrésztől, tudva, hogy a terjedelemnek korlátai vannak - meglehetősen önmérsékletet kellett tanúsítanom a konkrét anyag mibenlétét illetően. Hely hiányában - és higgyék el ez volt a disszertáció írása során meghozott legfájdalmasabb döntés - el kellett tekintenem például a statisztikai algoritmusok, programok (Student-t, Welch- és F-próba) ismertetésétől. Egész tudományos pályám, szemléletem szempontjából meghatározó erejűnek tartom ugyanis azon pillanatok, amikor sikerült végre kiintegrálnom a Student-t eloszlás sűrűségfüggvényét, vagy amikor az F-eloszlást inkomplett béta eloszlásra visszavezetve, először sikerült számítógépesen generálnom az F-táblázat értékeit.

A farmakológiai és matematikai-számítástechnikai témájú szakaszok (és az oldalszámok senkit ne tévesszenek meg) egyenrangúak. Dolgozaton végigvonuló váltakozásuk, helyenkénti összefonódásuk törvényszerű: A vizsgálandó farmakológiai problémák rendszerint kijelölik a mérendő fiziológiai paramétereket. Az illető paraméterek, adatok korszerű meghatározása számítástechnikai feladat. A nyert adat-halmazok azonban, önmagukban, a köztük lévő összefüggések nélkül értéktelenek. (Szemléletes hasonlattal élve: ahogy a rakás téglá nem ház, a rakás adat nem tudomány.) Az összefüggés felállítása, a "modell" megalkotása viszont a matematika tárgykörébe tartozik. Ha mindenáron célkitűzést szeretnénk e helyt látni - ezen folyamat szemléltetése volt az.

Hálával és szeretettel gondolok Dr. Latzkovits Lászlóra és Dr. Latzkovitsné Dr. Rimanóczy Ágnesre, akiktől, diákkörösként, a tudományos gondolkodás, mint módszer csíráit elsajátítottam, - akik megtanítottak a pontos, becsületos munka örömére, - akik belémnevelték a jelenségek, a tények iránti alázatot. Köszönettel tartozom Dr. Papp Gyula egyetemi tanárnak. Hasznos tanácsai, a vele folytatott beszélgetések számtalanszor adtak új erőt, új lendületet a megkezdett út folytatásában. Egy kívülálló számára sokszor értelmetlennek, meddőnek tűnő programozási próbálkozásaimat kísérő bölcs türelme nélkül ezen tanulmány soha nem készült volna el. Végezetül, köszönettel tartozom feleségemnek, Háláné Ágoston Editnek a kézirat javításáért, a gondos korrektúráért.

Szeged, 1992. december 20.

2./ SZÁMÍTÁSTECHNIKA ÉS SZÍVELEKTROFIZIOLÓGIA

A számítástechnikai hardver ugrásszerű fejlődése napjainkra forradalmasította a legtöbb tudományterületet - így a szív-elektrofiziológiát is. A tipikus tudományos alkalmazások központi egység, memória és segédprocesszor igényét tekintve (1. TÁBLÁZAT) - figyelembe véve, hogy ezen elemek teljesítőképessége két évente közel megduplázódik, ugyanakkor világszerte árak ugyanezen idő alatt csaknem feleződik - a kutatók számára lehetővé vált, hogy az egyszerű adat-nyerésen és off-line adat-feldolgozáson túl, még a kísérlet során bonyolult, mélyreható elemzést hajtsanak végre.

1. TÁBLÁZAT

Tipikus tudományos alkalmazások hardver igénye

ALKALMAZÁS	CPU.	RAM.	MAT.PROC.
adatnyerés	I, II	II	I
jelelemzés	III	I	III
adatelemzés	III	II	III
adatábrázolás	I	II	I
képfeldolgozás	III	III	III
adatbázis kezelés	III	II	I
szöveg feldolgozás	I	I	I
szimuláció	III	III	III
szabályozás	III	I	III

Jelölés: CPU. (központi egység) = I: alacsony hatékonyságú, az igényeket egyszerű 8 bites processzor is kielégítheti; II: közepes hatékonyságú; III: magas hatékonyságú, amit csak a rendelkezésre álló technológia fejlettsége nyújtani képes; RAM. (közvetlen hozzáférésű tár) = I: kis kapacitású, például 64 KByte-os; II: közepes kapacitású; III: nagy kapacitású; MAT.PROC. (matematikai segédprocesszor) = I: az alkalmazás nem igényel segéd-processzor támogatást; III: segéd-processzor használata nélkülözhetetlen. [1]

A szívszövet egyedülálló az ingerlékeny biológiai struktúrák között. Mechanikai sajátosságait, amelyek lehetővé teszik, hogy a szív, mint szerv hatékony pumpaként funkcionáljon, az ingerület-kontrakció csatolásnak nevezett folyamaton keresztül a bioelektromos történések mélyrehatóan befolyásolják. Nem kétséges, hogy a fiziológiai ill. patofiziológiai mechanizmusok feltárása, a különböző

[1]: Maly, J., Smith, R., és Horowitz, J., M.: New directions in scientific computing: impact of advances in microprocessor architecture and system design. *Comp. Prog. Biomed.* 18:149 (1984)

patológiás állapotok (hangsúlyozottan az életveszélyes ritmuszavarok) gyógyszeres kezelésének elméleti és gyakorlati kérdései, valamely hatóanyag pontos hatásmechanizmusának tisztázása jelentékeny mértékben a szív bioelektromos aktivitásának tanulmányozását igényli.

A szívsejt membránon keresztül - miként minden membránnal határolt biológiai struktúra esetében - jelentős ion-grádiensek állnak fenn, amelyeket speciális pumpa-mechanizmusok hoznak létre - végső soron, az adenozintrifoszfát (ATP) makroerg kötéseiben tárolt energia rovására (Na^+/K^+ -pumpa, Ca^{2+} -pumpa). A pumpa mechanizmusok mellett az ion homeosztázist - energetikai szempontból többnyire közvetlenül a Na^+ -gradiens elektrokémiai potenciáljától függő passzív komponensek ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ és Na^+/H^+ kicserélődési- valamint $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ ko-transzport) szabályozzák [2].

Az excitáció tovaterjedése a szívszövetben ún. ion-csatornák működésén keresztül valósul meg. Az ion-csatornák a sejtmembrán lipid kettős rétegébe merülő összetett óriás molekulák, amelyek bizonyos alegységei a környezetükben bekövetkező változásokra (az elektromos tér megváltozása; neurotranszmitterek, hormonok, jelenléte; a lipid környezet mechanikai torzulása) konformáció-változással reagálnak. A konformáció-változás eredményeként pórusok nyílnak meg, amelyeken keresztül - a csatorna ion-szelektivitása által determináltan - ionok mozoghatnak a gradiens irányának megfelelően [3]. A csatornák kinyílását és bezáródását szabályozó folyamatot "gating"-nek nevezzük. Adott membrán területen fellépő következményes ion-fluxusok ugyanakkor az elektromos térerő megváltoztatásán keresztül szomszédos területek ion-csatornáit aktiválhatják és így tovaterjedő transzmembrán feszültség változást, akciós potenciált generálhatnak [4]. Különösen a mechanikai aktivitással rendelkező sejtek esetében az elektromos impulzus összetett mechanizmusok révén (lassú Ca-csatorna aktiváció [5], $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődési transzport [2], Ca-indukált Ca^{2+} -release a szarkoplazmatikus retikulumból [6]) amplifikált intracelluláris Ca^{2+} -szint

[2]: 1./ Mullins, L., J.: Ion transport in the heart. Raven Press, New York, (1982); 2./ Philipson, K., D.: Cardiac sodium-calcium exchange research. New directions. Trends Cardiovasc. Med. 2:12 (1992)

[3] Pelcer, D., és Trautwein, E.: Currents through ionic channels in multicellular cardiac tissue and single heart cells. Experientia 43:1153 (1987)

[4]: Carmeliet, E., és Vereecke, J.: Electrogenesis of the action potential and automaticity in: Handbook of Physiology, The Cardiovascular System, Vol.:I. The Heart, Szerk.: Berne, R., M., Sperelakis, N., Geiger, S., R.; American Physiological Society. Bethesda, Maryland (1979)

[5]: Reuter, H.: Ion channels in cardiac cell membranes. Ann. Rev. Physiol. 46:473 (1984)

[6]: 1./ Fabiato, A., és Fabiato, F.: Contractions induced by calcium-triggered release from the

emelkedésbe majd az aktin-miozin interakció következményes aktivációján keresztül kontrakcióba konvertálódik [7].

2.1./ A szívelektrofiziológia és a számítástechnika párhuzamos fejlődése a 70-es évek végéig

A szívszövet bioelektromos aktivitásának tanulmányozására irányuló első próbálkozások abból az egyszerű megközelítésből indultak ki, hogy a szívet és az azt magába foglaló testet legnagyobb részt az elektromos áramot jól vezető sóoldat tölti ki - és így a szív működés alatt végbemenő elektromos változásokat detektálni lehet a szívtől távol, a testfelszínen is [8]. Az testfelszíni áramok azonban igen gyengék és megbízható mérésük csak alkalmas húros galvanométer elkészítése után vált lehetségessé [9]. Einthoven megfigyelte, hogy a testfelszín két pontja között mérhető feszültség a szív ciklus alatt jellegzetes módon változik és a kapott hullámgörbe (az elektrokardiogram) nevezetes pontjai, azok időzítése, kapcsolatba hozhatók a szív ciklus élettani történéseivel. Az elektrokardiográfia azonban túlságosan indirekt módszer, és az általa szolgáltatott adatok túlon túl összetettek ahhoz, hogy hiteles következtetéseket vonjunk le belőlük a háttérben álló celluláris mechanizmusokra vonatkozóan.

Az igazi metodikai áttörés századunk 40-es éveinek második felében következett be. 1947 nyarán Cole és Marmont kifejlesztették az ún. "voltage-clamp" technikát [10] majd 1949-ben Coraboeuf-nek és Weidmannnak sikerült kapillaris mikroelektróddal szívszövetből transzmembrán potenciálokat elvezetni [11]. A mikroelektród technikát egyébként eredetileg Ling és Gerard vázizomra

Fabiato, A.,: Calcium and sarcoplasmic reticulum, in: Langer, G., (szerk.): Calcium and the heart. New York, Raven Press (1990)

[7]: Gevers, W.,: Calcium and the contractile mechanism in th heart and smooth muscle. in Calcium antagonists and cardiovascular disease. Szerk: Opie, L., H., Raven Press, New York, (1984)

[8]: Waller, A., D.,: A demonstration on man of electromotive changes accompanying the heart's beat. J. Physiol. 8:229 (1887)

[9]: 1./ Einthoven, W.,: Le télécadiogramme. Arch. Int. Physiol. 4:132 (1906); 2./ Waller, A., D.,: The electro-cardiogram of man and of the dog as shown by Einthowen's string galvanometer. Lancet i:1448 (1909)

[10]: Cole, K., S.,: Dynamic electrical characteristics of the squid axon membrane. Arch. Sci. Physiol. 3:253 (1949); Marmont, G.,: Studies on the axon membrane. I. A new method. J. Cellular Comp. Physiol. 34:351 (1949)

[11]: Coraboeuf, E., és Weidmann, S.: Potentiels d'action du muscle cardiaque obtenus á l'aide de microélectrodes intracellulaires. Présence d'une inversion de potentiel. C.r. Soc. Biol. 143:1360 (1949)

fejlesztették ki Chicagóban [12] ahonnan Woodbury közvetítésével Salt-Lake-Citybe [13], és Hodgkin révén Angliába, Cambridge-be került [14].

1912 és 1949 között az elmélet fejlődése messze lemaradt a technikai feltételek javulása mögött. Miközben Bernstein már 1912-ben nagyon világosan kifejtette, hogy a membrán-feszültség változásoknak transzmembrán ion-mozgásokkal kell kapcsolatban állniuk [15], 1947-ig, az ún. "nátrium hipotézis" megszületéséig [16] nem történt kísérlet a fő töltés-szállító ion-fajták azonosítására. Jóllehet már a kutatások korai szakaszában kiderült, hogy az ideg rostok a repetitív kisülések alatt K^+ -ot veszítenek [17], a késleltetett repolarizáló K -áramot a "voltage-clamp" technika bevezetéséig nem sikerült felfedezni [18].

Pusztán a teljesség kedvéért jegyezzük meg, hogy a "voltage-clamp" technika az ion-áramok tanulmányozásának egyik leghatékonyabb és sokáig egyetlen eszköze volt. Az általa szolgáltatott eredmények alapján sikerült egzakt módon leírni az elektromos és/vagy kémiai stimulusok hatására fellépő ion-konduktancia változásokat [19]. Ugyanakkor az 70-es években, a "clamp" koncepció kiterjesztése révén születtek meg azok az eljárások ("patch-clamp"), amelyek segítségével akár egyetlen ion-csatorna permeabilitás-változásának tanulmányozása is lehetővé vált [20].

Ami a kísérletek során kapott analóg jelek feldolgozását illeti, ma már senkinek sem jutna eszébe a 60-as évek közepéig kizárólag rendelkezésre álló

[12]: Ling, G., és Gerard, R., W.: The normal membrane potential of frog sartorius fibres. *J. Cell. Comp. Physiol.* 34:383 (1949)

[13]: Woodbury, L., A., Woodbury J., W., és Hecht, H., H.: Membrane resting and action potentials from single cardiac muscle fibres. *Circulation* 1:264 (1950)

[14]: Nastuk, L., W., és Hodgkin, L., A.: The electrical activity of single muscle fibres. *J. Cell. Comp. Physiol.* 35:39-58 (1950)

[15]: Bernstein, J.: *Elektrobiologie*. Vieweg, Braunschweig (1912)

[16]: Hodgkin, L., A., Huxley, A., F., és Katz, B.: Ionic currents underlying activity in the giant axon of squid. *Arch. Sci. Physiol.* 3:129 (1949)

[17]: Hodgkin, A., L., és Huxley, A., F.: Potassium leakage from an active nerve fibre. *J. Physiol.* 106:341 (1947)

[18]: Hodgkin, A., L., és Huxley, A., F.: Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 116:473 (1952)

[19]: Jack, J., J., B., Noble, D., és Tsien, R., W.: *Electric current flow in excitable cells*. Calderon Press, Oxford (1975)

[20] 1./ Neher, E., és Sakman, B.: Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature* 260:799 (1976); 2./ Hamill, O., P., Márty, A., Neher, E., Sakman, B., és Sigworth, F., J.: Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch.* 391:85 (1981); 3./ Sigworth, F., J.: The patch clamp is more useful than anyone had expected. *Fedn. Proc.* 45:2673 (1986)

megoldásokat követni. Mindössze néhány transzmembrán potenciál paraméterre kifejtett fiziológiai/farmakológiai hatás megbízható tisztázásához nem ritkán 100-nál is több jelet kellett az oszcilloszkóp képernyőjéről lefotózni, majd a kinagyított negatívok alapján, grafikusán kiértékelni. A kísérleti adatok számológépekkel végzett további "feldolgozása" több napos lélekölő robotot jelentett.

Az adat-nyeréssel ill. feldolgozással kapcsolatos problémák átfogó, "iparszerű" megoldásának feltételei néhány évvel az összetettebb aritmetikai egységek, félvezető memóriák megjelenése után, - 1971-ben teremtődtek meg. Ekkor dobták ugyanis piacra az INTEL cég az első mai értelemben vett mikroprocesszorokat (Intel 4004 és 8008 [21]; a mikroprocesszor szó a számítógépes terminológiában már korábban is ismert volt, - de a számítógépek mikroprogramot feldolgozó központi egységének processzorát értették alatta). A 70-es évek második felére pedig megjelentek az első ún. "egylapkás" mikroszámítógépek [22]. (A mini-, ill. mikro- előtag - szemben a számítástechnikában mutatkozó törekvésekkel - ma pusztán a méretre utal.) A mérés-technika evolúciója napjainkban az egyszerű, mikroprocesszor vezérelte célkészülékek felől az "intelligens mérőműszer" + mikroszámítógép konfigurációk felé tart. A mikrokomputerek révén - feldolgozási sebesség és a kezelhető adat-állományok megnövekedésén túl - lehetőség nyílt arra is, hogy az eredetileg nagy számítógépekre kifejlesztett, flexibilis, hosszú éveken keresztül tesztelt programrendszereket széleskörben alkalmazzák a kutatók - közvetlenül a kísérleti berendezések mellett. Ezen folyamatnak köszönhetően megoldódtak a programok, adatok ill. eredmények verzátusságával kapcsolatos - korábban igen sok bosszúságot okozó problémák is.

2.2./ Elterjedt hardver-megoldások

A Hugo Sachs Elektronik (HSE) szívpreparátumokra kidolgozott akciós potenciál kiértékelője ([23], 1.ábra) - a mikroprocesszor alapú egy-funkciós berendezések tipikus képviselője - kissé körülményesen működik. Minden mérési ciklus két, egymást követő akciós potenciál elemzését jelenti. Az elsőből amplitúdókat mér a készülék, majd a második akciós potenciálból meghatározza a megfelelő amplitúdókhöz tartozó időtartamokat és a maximális depolarizációs

[21]: 1./ MCS-8 Microcomputer set, Users Manual. Rev.: 4, Intel Co. (1973); 2./ MCS-4 Microcomputer set, Users Manual. Rev.: 4, Intel Co. (1973)

[22]: Gebler, J.,: The new generation of single-chip microcomputers. Electronic Eng. 49/2:59 (1977)

[23]: Hugo Sachs Elektronik, Biomedical Research Instruments for Pharmacology and Physiology. (1986, katalógus)

sebességet (dV/dt_{\max} , pontosabban $(dV/dt)_{\max}$). A mért paraméterek mátrix-printeren kinyomtathatók. A processzor feladatai igen korlátozottak, a teljes bemenő jel mintavételezése nem történik meg, a gyártó amennyire csak lehetett analóg áramköri elemeket alkalmazott. Hátrányt jelent, hogy az említett mérési ciklus miatt a mikroelektródot ugyanazon sejtben kell tartani (ami az erőteljesen kontraháló munkaizom preparátumokkal nem könnyű feladat) - másrészt az akciós potenciál paraméterek tranziens változásai ilyen rendszerrel követhetetlenek. A berendezés mindazonáltal igen hasznos lehet például farmakológiai rutin vizsgálatokban, "steady-state" szerhatások esetén. További előnyt jelent a készülék kezelésének egyszerűsége, és a beépített hibafelismerő rendszer, amely jelzi, ha a korrekt mérés feltételei valamilyen oknál fogva nem teljesülnek.

Az akciós potenciál felszálló szárának kielégítő kiértékeléséhez a mintavételezési frekvenciának 10 és 100 kHz között kell lennie. Ugyanilyen mintavételezési gyakoriság viszont túlságosan sok adatot szolgáltatna a repolarizáció fázisában, ami rendkívül megnövelné a szükséges tárméretet. A repolarizációs szakban rendszerint elegendő az 1kHz-es mintavételi frekvencia. Ennek megfelelően a legsikerültebb mikroprocesszor alapú konfigurációk kettős mintavételi sebességgel dolgoznak [24]. A repolarizációs fázis lassúbb mintavételezése alatt viszont az adatok feldolgozása, a kívánt fiziológiai jellemzők előállítása már elkezdődhet ill. alkalmas hardver-elemek beépítése esetén be is fejeződhet.

Az 1979-ben Elharrar és Lovelance által közölt, Intel 8080A alapú akciós potenciál kiértékelőben ([25], 2.ábra) a mikroprocesszornak még 11 us-ba telt, hogy egyetlen adatot fogadjon az A/D konverterből. Az adat tárolása és a memóriacím inkrementálása további 12.5 us-ot emésztett fel. A 23.5 us-os mintavételezési limit a derivált numerikus úton történő valós idejű ("real-time") előállítását lehetetlenné tette. A bemenő jelet ennek megfelelően először elektronikus úton deriválták majd egy ún. "sampling-and-hold" áramköri egységbe vezették és az ezáltal tartott, a dV/dt_{\max} -szal arányos - feszültség értéket olvasták ki, miután az akciós potenciál adatok már tárolásra kerültek a memóriában. A szerzők szerint a fenti megoldással 42kHz-es mintavételi frekvenciánál már nem kellett számolni az akciós potenciál felszálló szárának zavaró torzulásával. A

[24]: Sellin, L., C., és Koskinen, L.,: Real-time acquisition and analysis of cardiac action potentials and twitches using a programable digitizer and a microcomputer. *Comp. Method. Progr. Biomed.* 24:21 (1987)

[25]: Elharrar, V., és Lovelance, D., E.,: On-line analysis of intracellular electrophysiological data using a microcomputer system. *Am. J. Physiol.* 273:H400 (1979)

repolarizáció fázisa alatt használt 1kHz-es mintavételezés az akciós potenciál időtartamok ± 1 ms pontosságú meghatározását biztosította.

A feldolgozási sebesség növelésére kínálkozó egyik mód a kettős mikrokomputer konfiguráció (tulajdonképpen a több processzoros rendszerek őse), amelyben az egyik az A/D konvertert vezérli, míg a másik a "real-time" értékelést végzi ([26], 3.ábra). Az osztott működés lehetővé teszi az ún. stimulus artefaktum kiszűrését is, - egyszerűbb rendszerekben ez csak operátori beavatkozással volt kivitelezhető. Az akciós potenciál analízise a diasztolés potenciál meghatározásával kezdődik - mégpedig két feltétel alapján. Az első követelmény az, hogy a megelőző akciós potenciál depolarizálódjon (a jel lefutása tartósan negatív irányú) - a második, hogy a feszültség szint a küszöb potenciál alá csökkenjen. Amennyiben a diasztolés potenciál kritériumai teljesülnek, elindul az akciós potenciál 0. fázisát (gyors depolarizáció) azonosító szubrutin (a feltétel ekkor a jel tartós, pozitív irányú változása a diasztolés potenciál szintről kiindulva). A feldolgozás csak az akciós potenciál kezdetétől számított 4ms letelte után - tehát biztosan a repolarizációs szakban - kezdődik és az újabb 0. fázis detektálásáig tart. A felszálló szár alatti 10kHz-es mintavételezés a repolarizáció alatt 100 Hz-re lassul és a szabaddá váló idő-intervallumokban a szükséges számításokat a második komputer elvégezheti. A második mikrokomputert gyakran helyettesítették kereskedelmi forgalomban beszerezhető olcsóbb professzionális személyi számítógépekkel [27].

Kutató laboratóriumokban a legflexibilisebben alkalmazható összeállítás az "intelligens mérőműszer" + számítógép konfiguráció ([28], 4.ábra). Régebben nem lehetett elégszer hangsúlyozni, hogy az elrendezés, a hardver megválasztásának mindig a feladat természetét, a várható eredményeket és a rendelkezésre álló anyagi-technikai háttérrel mérlegelő optimalizáción kell alapulnia. Ez ma, - részben a techikai/technológiai fejlődésnek, részben piaci viszonyok alakulásának köszönhetően - nem feltétlenül követendő megközelítés. Könnyen, relatíve olcsón beszerezhetünk az adott feladat igényeit messze kielégítő

[26]: Klein, D., Jenkins, J., M., és Eick, R., E.: Dual microcomputer analysis of cardiac transmembrane action potentials. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* BME-30:819 (1983)

[27]: Snoechx, L., H., E., H., Schrijen, J., J., W., van Bilsen, M., Lammers, W., J., E., P., van der Vusse, és G., J., Reneman, R., S.: A microcomputer system for haemodynamic measurements in isolated, working rat hearts. *Comp. Biol. Med.* 16:301 (1986)

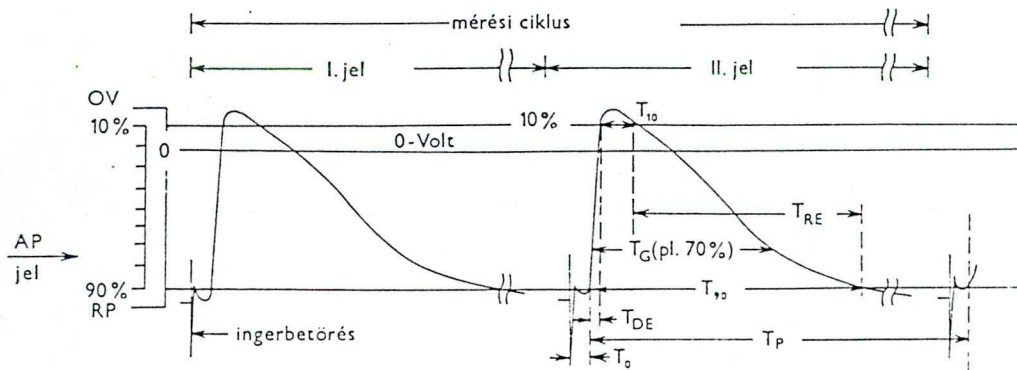
[28]: 1./ Papp J. Gy., Hála O., Virág L., és Szekeres L.: Subsidiary Class 4 antiarrhythmic properties of prajmaline. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 21S-IV:9 (1989); 2./ Hála O., Papp J. Gy., és Szekeres L.: Computer assisted analysis of mechanical activity as affected by calcium antagonists under ischaemic circumstances in rabbit papillary muscles. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 22S-III:105 (1990); 3./ Papp J. Gy., és Hála O.: A szív intracelluláris akciós potenciáljának mikrokomputeres elemzése. in Antalóczy Z. (szerk): Számítástechnika és kardiológiai alkalmazása. Medicina, Budapest. (1990)

összeállításokat, nemis beszélve arról az időnyereségről, amit azáltal nyerünk, hogy nem magunknak kell a részegységeket összeszerelnünk.

2.3./ Program-nyelvek

Jóllehet napjainkban számos szoftver van forgalomban, a mindennapi kutatómunka során gyakran kerülünk szembe olyan speciális problémákkal, amelyek hatékony megoldása csak egyedi cél-programok kidolgozása révén lehetséges. A transzmembrán potenciál változások gyors lefutását és az alkalmazott analízis-fajták igényességét tekintve a megfelelő programozási nyelv megválasztása külön megfontolást igényel. Az "off-line" kiértékeléshez ill. elemzéshez sokszor elegendő az "interpreter" típusú nyelvek használata (pl.: GW BASIC). Az "interpreter" a fordítást minden forrásnyelvi kijelentésre külön-külön elvégzi és a kapott gépi kódú programot mindjárt végre is hajtja. Ebből következik, hogy az "interpreternek" rezidens formában rendelkezésre kell állnia - mind a fejlesztés, -mind a kész program futtatása alatt. Természetesen ez jelentős tár-többletet kíván, és a futási sebesség is lassú lesz. "On-line" vagy méginkább "real-time" elemzés érdekében az "interpreterrel" kifejlesztett programot le kell fordítanunk, vagy teljes egészében "compiler" típusú nyelven kell megírunk. (A "compiler" típusú nyelven írt programok végrehajtási sebessége az "interpreter" környezetben futókéhoz képest, a feladattól függően, 2-10-szer gyorsabb.) A magas szintű "compiler" nyelvek hátránya, hogy - bár a forrásprogram elkészítését rendszerint külön "editor" segíti, amely minden forrásnyelvi kijelentésre elvégzi a szintaktikai elemzést - a nem kellően gyakorlott programozó követhet el olyan hibákat, amelyeket a "compiler" nem tud kimutatni és a végső, gépi kódú program végrehajthatatlanná válik. Az "interpreterek" és a "compillerek" előnyeit egyesítő un. "interaktív inkrementális compillerek" használata nem megvetendő lehetőségeket kínál. Egy "interaktív inkrementális compiler" a magas szintű nyelvi kijelentések fordítását - az "interpreterekhez" hasonlóan, lépésenként végzi. A jónak ítélt gépi kódú program-részeket azonban eltárolja és ha újra előfordulnak, már készen veszi elő azokat. Ha a forrásnyelvi program fordítása befejeződött, következik egy kiegészítő ellenőrzés és "compillálás", ami egyrészt tovább csökkenti annak lehetőségét, hogy hibás program kerüljön futtatásra, másrészt tömörebb, kisebb méretű gépi kódot eredményez. A futási sebesség közel azonos lesz a közvetlenül gépi kódban írt programokéval. A jelenleg elterjedt magas szintű programozási nyelvek közül néhány elérhető "interaktív inkrementális compiler" formában is (pl. Quick). Néhány évvel ezelőtt még azt mondtuk, hogy igazán jó

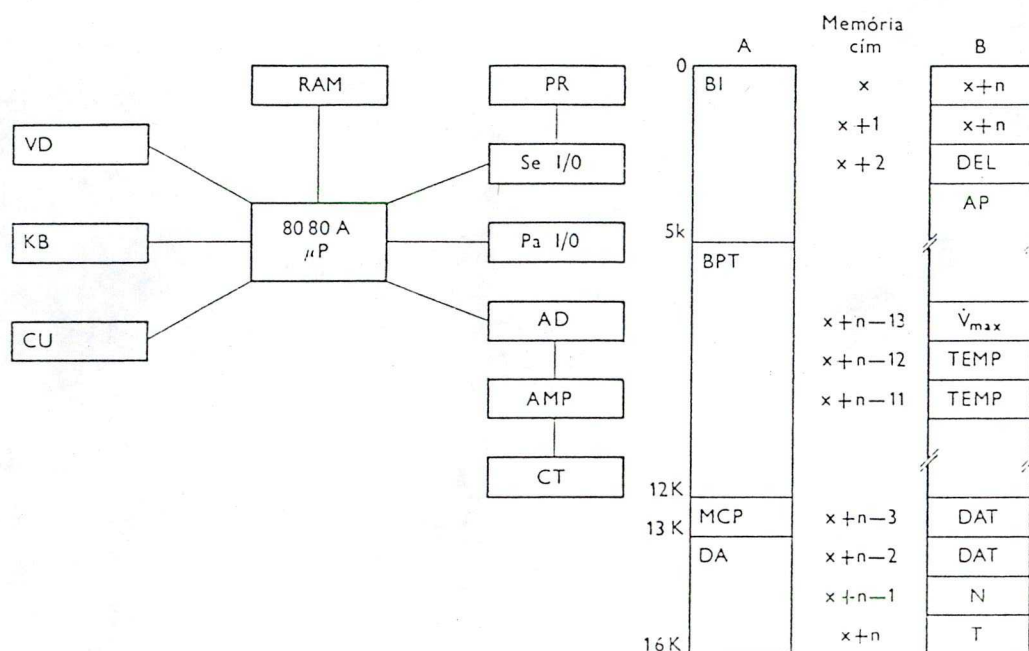
programot úgy készíthetünk, hogy a közvetlenül gépi kódban írt, - többnyire az adatszerzést, az adatátvitelt ill. a csatolt berendezések (ingerlő, stimulátor, rajzgép) működését szabályozó program-részeket kombináljuk valamely magas szintű nyelven írt, bonyolultabb számításokat végző program-szegmensekkel. Ez ma már nem kötelező; egy közepes teljesítőképességű személyi számítógéppel és valamely "interaktív inkrementális compiler" típusú programozási nyelvvel a szív-
elektrofarmakológiai laboratóriumokban felmerülő problémák többsége hatékonyan megoldható.



lfd. Nr.:	$\tau_{18\%}$ (ms)	$\tau_{98\%}$ (ms)	τ_{Var} (ms)	τ_{De} (ms)	τ_{Re} (ms)	τ_{Per} (s)	RP (mV)	OV (mN)	F (mN)	dU/dt (V/s)	tUe (ms)	Ampl (mV)	Avar (%)	Avar (mV)	Versuchszeit Std: min s
0001.	02.02	099.3	02.02	0.530	096.7	00.98	-091.	0025.	002.0	0291.	07.03	0116.	0010.	013.4	01:57 23
0002.	01.89	098.6	05.63	0.521	096.2	00.98	-091.	0025.	002.0	0290.	07.03	0116.	0020.	001.8	01:57 27
0003.	02.04	098.5	09.02	0.521	095.9	00.98	-091.	0025.	002.0	0298.	07.03	0116.	0038.	-09.8	01:57 32
0004.	02.04	099.4	012.3	0.521	096.8	00.98	-091.	0025.	002.0	0305.	07.03	0116.	0040.	-21.4	01:57 36
0005.	02.04	099.5	016.9	0.524	097.0	00.98	-091.	0025.	002.1	0293.	07.03	0116.	0050.	-33.0	01:57 40
0006.	01.91	099.1	028.2	0.521	096.7	00.98	-091.	0025.	002.0	0293.	07.03	0116.	0060.	-44.6	01:57 44
0007.	02.04	098.5	055.0	0.524	096.0	00.98	-091.	0025.	002.1	0302.	07.03	0116.	0070.	-56.2	01:57 48
0008.	02.04	097.7	073.3	0.521	095.2	00.98	-091.	0025.	002.0	0295.	07.03	0116.	0080.	-67.8	01:57 52
0009.	01.86	097.8	097.8	0.521	095.4	00.98	-091.	0026.	002.0	0299.	07.03	0117.	0090.	-79.3	01:57 56
0010.	02.03	097.2	0000.	0.530	094.7	00.98	-091.	0025.	002.0	0294.	07.03	0116.	0000.	0000.	01:58 00

1. ábra A Hugo Sachs Elektronik (HSE) akciós potenciál kiértékelőjének mérési elve (fent) és az általa szolgáltatott paraméterek (alul).

A korrekt méréshez két akciós potenciál jelnek kell a bemenetre érkeznie. Az elsőből amplitúdókat mér a berendezés (RP: nyugalmi potenciál; OV: túllövés; RP + OV: akciós potenciál amplitúdó; Avar(mV): az Avar(%) amplitúdóhoz tartozó feszültség szint) A második akciós potenciálból a készülék meghatározza a megfelelő amplitúdóhoz tartozó időtartamokat (T_0 ill. tUe: a vezetési idő; T_{DE} : a depolarizációs idő; T_{10} és T_{90} : a 10 és 90 százalékos repolarizációs szintnél mért akciós potenciál időtartam; T_G (ill. tVar): az akciós potenciál időtartama az Avar(%) változtatható repolarizációs szintnél; T_{RE} : a repolarizációs idő; T_p : a periódus idő vagy másnéven ciklushossz). Az említett paramétereken kívül az akciós potenciál kiértékelő kinyomtatja a mérés sorszámát (lfd.Nr.), a mérés bekapcsolástól számított időpontját (Versuchszeit), a maximális depolarizációs sebességet (dU/dt) és - amennyiben a megfelelő bemenetet bekötöttük - a maximális kontrakciós erőt (F) is.



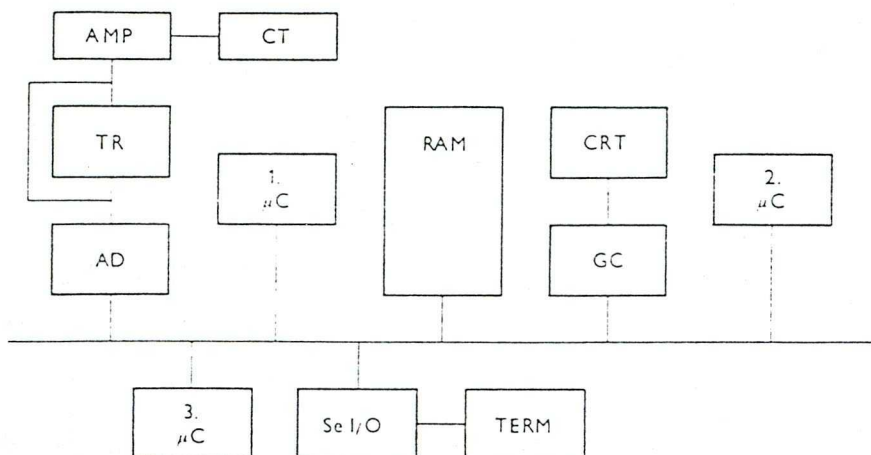
2. ábra Intel 8080A mikroprocesszor alapú akciós potenciál kiértékelő elvi felépítése

μP : mikroprocesszor; CU: magnókazettás külső program tár; KB: billentyűzet; VD: képernyő; RAM: 16Kbyte-os 8 bit/szó szervezésű közvetlen hozzáférésű tár; SeI/O: soros input/output interface; PaI/O: párhuzamos input/output interface; AD: analóg-digitális átalakító; PR: mátrix nyomtató; AMP: erősítő; CT: kapilláris mikroelektrod a transzmembrán potenciálok elvezetésére.

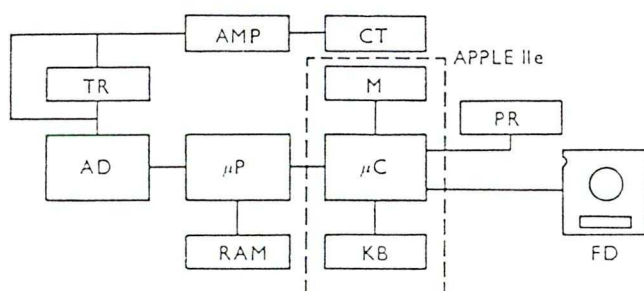
A: a RAM felosztása: BI: BASIC interpreter; BPT: paraméter táblázatok és a program területe; MCP: gépi kódú programok területe.

B: az akciós potenciál adatok elhelyezkedése: x: kezdőcím; x+n: az utolsó adat címe; DEL: az ingerbetörés és a mintavételezés kezdete közötti késleltetés; AP: akciós potenciál adatok; V_{max} : a maximális depolarizációs sebesség; TEMP: a szervfürdő hőmérséklete; DAT: a kísérlet dátuma; N: a kísérlet száma; T: a mérés időpontja.

a.



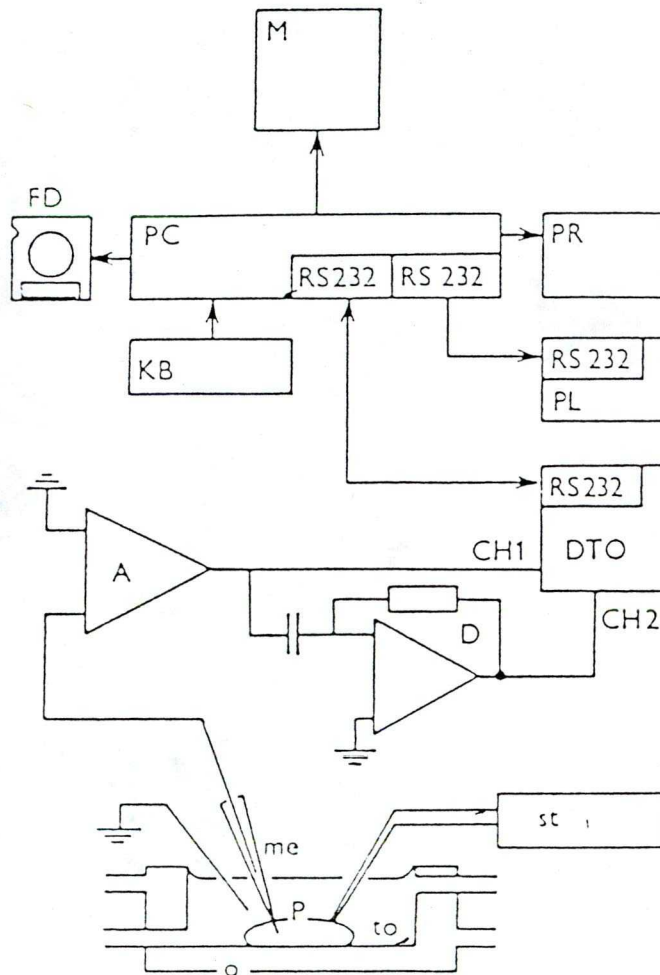
b.



3. ábra Kettős mikrokomputer konfigurációval megoldott akciós potenciál kiértékelők elvi vázlata

A: két mikroprocesszoros rendszer: 1. μ C: Intel SBC 80/20-4 mikroprocesszor; 2. μ C: Intel SBC 80/05 mikroprocesszor; RAM: 48 Kbyte-os 8 bit/szó szervezésű központi tár, GC: grafikus vezérlő; CRT: 512x512 pont felbontású grafikus képernyő; SeI/O: soros input/output interface; TERM: terminál; TR: mágnesszalagos külső tár; AD: analóg-digitális átalakító; AMP: erősítő; CT: kapilláris mikroelektród. A mintavételezést és az adat-feldolgozást az 1. μ C és 2. μ C mikroprocesszorok irányítják. A 3. μ C szerepe alárendelt, csupán a programozást és a program ill. kiértékelési hibák felderítését könnyíti meg.

B: személyi számítógép (APPLE IIe) + mikrokomputer (Motorola MC 6809; μ P) konfiguráció: M: monitor; μ C: a személyi számítógép központi egysége; KB: billentyűzet; RP: mátrix nyomtató; RAM: közvetlen hozzáférésű tár (14 Kbyte, 7 bit/szó) a mintavételezett jelek átmeneti tárolására; AD: analóg-digitális átalakító; TR: mágnesszalagos külső tár (magnetofon); AMP: analóg erősítő; FD: mágneslemezes egység; CT: a transzmembrán potenciálok elvezetésére szolgáló kapilláris mikroelektród



4. ábra Mikrokomputer + intelligens mérőműszer konfiguráció

PC: Intel 386SX mikroprocesszorral működő személyi számítógép; M: monitor; KB: billentyűzet; FD: mágneslemez külső tár ("floppy disk"); PR: mátrix nyomtató; PL: rajzgép ("plotter"); DTO: TEKTRONIX 2230-as digitális tároló oszcilloszkóp; CH1 és CH2: az oszcilloszkóp analóg bemenetei (csatornái); A: analóg erősítő; D: elektronikus differenciátor; st: biológiai ingerlő; o: szervfűrdő; p: preparátum; to: tápoldat; me: kapilláris mikroelektrod; RS232: soros interface az adatátvitel lebonyolításához

2.4./ Számítógépes modellezés a szívelektrofiziológiában

A celluláris szívelektrofiziológia régen túljutott azon a stádiumon, amikor a kísérleti adatok birtokában egyszerűen ki lehetett jelölni az újabb kutatási irányokat, meg lehetett ítélni valamely megfigyelés helyét, értékét. Az ismeretek napjainkra oly mértékben gyarapodtak, hogy a sejtfunkciókkal kapcsolatos kérdések kvantitatíve is helyes megválaszolása számítógépes matematikai modellek alkalmazását igényli.

Az akciós potenciál lezajlása alatt funkcionáló ionáramokra vonatkozó tudásunk - végső soron, a különböző módszerekkel végzett egyedi kísérletekből származik. A kapott adathalmaz felhasználásával végzett számítógépes modellezés, az akciós potenciál és a modell sajátosságainak egybevetése, valamint az eltérések lehetséges okainak "számítógépes feltárása" révén előtűnnek az adott ismeret-szintet tükröző elképzelések, modellek hiányosságai és feltárulnak azok a pontok, amelyek részletesebb vizsgálatokat, további kísérleteket igényelnek. Az újabb eredményeket a modellbe visszavezetve - azt mintegy "finomítva", eljuthatunk a valóságot jól közelítő, "ideális" mechanizmushoz, amely teljesítőképességének csupán a kísérletes eljárások pontossága, megbízhatósága szab határt. Ez viszont ösztönzően hat újabb technikák kifejlesztésére. Olyan komplex rendszer esetében, mint a szívsejt-membrán ion-csatorna komplexumai, számítógép alkalmazása nélkül a vázolt megismerési folyamat rendkívül lelassulna, sőt sok tekintetben lehetetlenné válna.

A szívsejt akciós potenciál modellek megalkotásához a kezdeti lökést Hodgkin és Huxley [29] azon nézete adta, miszerint az ingerület vezetése minden ingerlékeny szövetben az általuk egyenletekbe foglalt modell szerint megy végbe - csupán a megfelelő paraméterek numerikus értékeit kell alkalmasan megválasztani ill. kísérletesen meghatározni. Az 50-es években végzett ilyen irányú vizsgálatokból azonban kitűnt, hogy a Hodgkin-Huxley modell inkorrekt módon írja le a szívsejt membrán ion-csatornáinak valóságos működését. További kísérleti adatok hiányában a modell számos egyszerű, teoretikus változatát dolgozták ki - lényegében azért, hogy a szív-szöveti akciós potenciálok hosszú plató fázisának kialakulását értelmezni lehessen. Fitzhugh [30] ill. George és Johnson [31]

[29] Hodgkin, A., és Huxley, A., F.: A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerves. *J. Physiol.* 117:500 (1952)

[30] Fitzhugh, R.: Threshold and plateaus in the Hodgkin-Huxley nerve equations. *J. gen. Physiol.* 43:867 (1960)

[31] George, E., P., és Johnson, E., A.: Solution of the Hodgkin-Huxley equations for squid axon treated with tetraethylammonium ion and potassium rich media. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 39:275

feltételezték, hogy az akciós potenciál időbeli megnyúlásának oka a rendkívül lassú K^+ -konduktancia változás. Noble [32] úgy vélte, hogy a szívsejt membránban befeléménő egyenirányítást mutató K-áram működik. Brady és Woodbury [33] szintén feltételezte a befeléménő egyenirányítást, de nem egy lassan aktiválódó K-árammal, hanem inkább a Na-áram inaktiválódásának elhúzóódásával számoltak. Egyszerűségük dacára a szívszövet számos bioelektromos jelenségét sikeresen írták le ezen modellek [34].

A 60-as évek elejére a transzmembrán potenciál modellek által felvetett kérdések messze túllépték kutatás metodikai lehetőségeit, így a modellek további módosítása - relevans kísérletes adatok hiányában, nem látszott célszerűnek. Részből, mert a korai "voltage-clamp" technikák feltételei mellett, multicelluláris preparátumok esetében a homogén membránpotenciál szintet (különösen a gyors Na-csatorna inaktivációja alatt) gyakorlatilag lehetetlen volt fenntartani [35], részben, mert kiderült, hogy a szívsejt membrán áram-komponenseinek száma sokkal nagyobb, mint idegsejtben [34] [36] - a továbblépés meglehetősen lassú volt. Új számítógépes modell kidolgozására [37] csak a lassú befeléménő áram [38], a tranziens kifeléménő áram [39] és a "pacemaker-áram" felfedezése

[32] Noble, D.,: A modification of the Hodgkin-Huxley equations applicable to Purkinje fiber action and pacemaker potentials. *J. Physiol.* 160:317 (1962)

[33] Brady, A., J., és Woodbury, G., W.,: The sodium-potassium hypothesis as the basis of electrical activity in frog ventricle. *J. Physiol.* 154:385 (1960)

[34] 1./ Noble, D.,: Computer action potentials and their experimental basis. *Proc. Int. Union Physiol. Sci.* 1:177 (1962); 2./ Noble, D.,: Cardiac action potentials and pacemaker activity. in: *Recent Advances in Physiology*. Linden, R., J., (Szerk), Churchill, London (1974)

[35] 1./ Beeler, G., W., és Reuter, H.,: Voltage clamp experiments on ventricular myocardial fibres. *J. Physiol.* 207:165 (1970); 2./ Johnson, E., A., és Lieberman, M.,: Heart: excitation and contraction. *Ann. Rev. Physiol.* 33:479 (1971); 3./ New, W., és Trautwein, W.,: Inward membrane currents in mammalian myocardium. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 334:1 (1972)

[36] Trautwein, W.,: Membrane currents in cardiac muscle fibres. *Physiol. Rev.* 53:793 (1973)

[37] 1./ Beeler, G., R., és Reuter, H.,: Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres. *J. Physiol.* 268:177 (1977); 2./ McAllister, R., E., Noble, D., és Tsien, R., W.,: Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol.* 251:1 (1975)

[38] Reuter, H.,: The dependence of slow inward current in Purkinje fibres on the extracellular calcium concentration. *J. Physiol.* 192:479 (1967)

[39] 1./ Carmeliet, E.,: Chloride ions and the membrane potential of Purkinje fibres. *J. Physiol.* 156:375 (1961); 2./ Dudel, J., Peper, K., Rudel, R., és Trautwein, W.,: The dynamic chloride component of membrane current in Purkinje fibres. *Pflügers Arch.* 295:197 (1967); 3./ Fozzard, H., A., és Hiraoka, M.,: The positive dynamic current and its inactivation properties in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol.* 234:569 (1973)

[40] után, - a 70-es évek második felében - nyílt lehetőség. A 70-es évek végére nyilvánvalóvá vált, hogy az eredetileg egységesnek gondolt "pacemaker áram" valójában két tagból áll [41] és - főként a "patch-clamp" technikának köszönhetően, hogy sino-atriális csomó esetében a lassú befelémelő áram egy gyors és egy lassú komponens, továbbá a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődési transzport áramának összege [42]. Ezzel párhuzamosan gyarapodtak a Na^+ -pumpa áramra [43], a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődésre [2][44] és az intracelluláris Ca^{2+} metabolizmusra [6][45] vonatkozó ismeretek, és pontosabb információkat sikerült nyerni a gyors Na-áram sajátosságairól is [46].

Az ismeretek új szintézisét a DiFrancesco és Noble által megalkotott komplex számítógépes modell képviseli [47] (5. ábra).

[40] Noble, D., és Tsien, R., W.,: The kinetics and rectifier properties of the slow potassium current in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol.* 195:185 (1968)

[41] 1./ Attwel, D., Eisner, D., A., és Cohen, I.,: Voltage clamp and tracer flux data: effects of a restricted extracellular space. *Q. Rev. Biophys.* 12:213 (1979); 2./ DiFrancesco, D., Noble, D.,: Implications of the re-interpretation of $i_{\text{K}2}$ for the modelling of electrical activity of pacemaker tissues in the heart. in: *Cardiac rate and rhythm.* Bouman, L., N., és Jongasma, H., J., (Szerk.) The Hague, Martinus Nijhoff (1982)

[42] Noble, D., és Noble, S., J.,: A model of sino-atrial node electrical activity based on a modification of the DiFrancesco-Noble (1984) equations. *Proc. R. Soc. Lond.* B222:295 (1984)

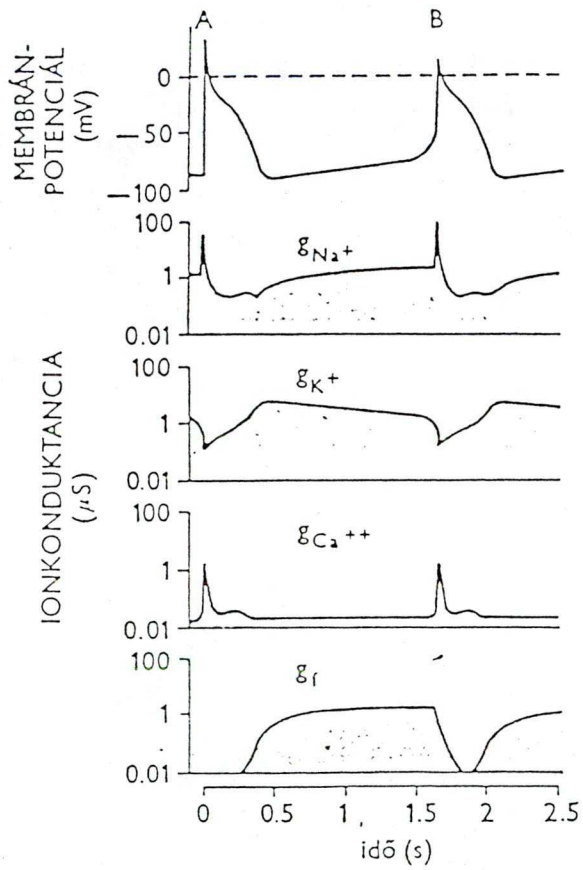
[43] 1./ Deitmer, J., W., és Ellis, D.,: The intracellular sodium activity of cardiac Purkinje fibres during inhibition and reactivation of the sodium-potassium pump. *J. Physiol.* 284:241 (1987); 2./ Eisner, D., A., Lederer, W., J.,: Characterisation of the sodium pump in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol.* 303:441 (1980); 3./ Ellis, D.,: The effects of external cations and ouabain on the intracellular sodium activity of sheep heart Purkinje fibres. *J. Physiol.* 293:76 (1977); 4./ Isenberg, G., és Trautwein, W.,: The effect of dihydro-ouabain and lithium ions on the outward current in cardiac Purkinje fibres. Evidence for electrogenicity of active transport. *Pflügers Arch.* 350:41 (1974)

[44] Mullins, L., J.,: A mechanism for Na/Ca transport. *J. gen. Physiol.* 70:681 (1977)

[45] Chapman, R., A.,: Excitation-contraction coupling in cardiac muscle. *Progr. Biophys. molec. Biol.* 35:1 (1979)

[46] 1./ Brown, A., M., Lee, K., S., és Powel, T.,: Sodium in single rat heart muscle cells. *J. Physiol.* 318:479 (1981); 2./ Ebihara, L., Shigeto, N., Liberman, M., és Johnson, E., A.,: The initial inward current in spherical clusters of chick embryonic heart cells. *J. gen. Physiol.* 75:437 (1980); 3./ Lee, K., S., Weeks, T., A., Kao, R., L., Akakie, N., Brown, A., M.,: Sodium current in single heart muscle cells. *Nature* 278:269 (1979)

[47] DiFrancesco, D., Noble, D.,: A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* B307:353 (1985)



5. ábra Purkinje-rost akciós potenciál a membrán ion-permeabilitás egyidejű változásával. (g_{ion} : az indexben feltüntetett ionra vonatkozó, míg g_f a "pacemaker" konduktancia-változás) [47]

3./ AZ ANTIARITMIÁS SZEREK OSZTÁLYOZÁSA

Az antiaritmiás szerek (a szív bioelektromos aktivitásának fiziológias tér- és időbeli viszonyait helyreállító hatóanyagok) osztályozására irányuló törekvések majd harmic éves múltra tekintenek vissza. A hatástani csoport (a vegyületek számát tekintve) a 60-as évek végén indult intenzív fejlődésnek (az 50-es évek végéig mindössze két szer, a kinidin és a prokainamid volt idesorolható). A klinikai gyógyító és az elméleti farmakológiai ill. elektrofarmakológiai kutató munkában egyaránt jól használható [48], az újabb kísérletes adatok figyelembe vételével végrehajtott kisebb-nagyobb módosításoknak köszönhetően [49] ma is általánosan elfogadott csoportosítás 1969-ben született meg - megalkotása Vaughan-Williams nevéhez fűződik [50]. A Vaughan-Williams-féle klasszifikáció (2. TÁBLÁZAT) azonban nem mentes a szokásos osztályozási problémáktól. A rendszer ugyanis 1.) HISTORIKUS, - abban az értelemben, hogy fő csoportjainak sorrendje a felfedezés időbeliségét tükrözi, 2.) HIERARCHIKUS, - mert valamely új vegyület besorolásának kizárólagos alapja az "uralkodó" szerhatás (3. TÁBLÁZAT) és 3.) SPECIÁLIS, - hiszen (legalábbis az I. csoport alosztályait tekintve) egyedül a kamrai munkaizom rostokon tapasztalt szerhatásokra támaszkodik. Ezen utóbbi tulajdonság legfőbb oka, hogy más szív-szöveti preparátumokon nyert "hatás-mintázatokat" is figyelembe véve az egyes szerek alig, vagy egyáltalán nem sorolhatók egyszerű, világos kategóriákba. A kinidin például Purkinje-rostok esetében rövidítheti [51] de meg is növelheti [52] az akciós potenciál hosszát. A pitvari akciós potenciálok időtartama pedig lidokain-szerű vegyületek hatására

[48] Keefe, D., L., D., Kates, R., E., és Harrison, D., C.: New antiarrhythmic drugs: their place in therapy. *Drugs* 22:369 (1981)

[49] 1./ Harrison, D., C.: Antiarrhythmic drugs: new science and practical applications. *Am. J. Cardiol.* 56:185 (1985); 2./ Harrison, D., C., Current classification of antiarrhythmic drugs as a guide to their rational clinical use. *Drugs*. 31:93 (1986)

[50] 1./ Vaughan-Williams, E., M.: Classification of antiarrhythmic drugs. in: Sandoe, A., és mtsai. (Szek.): *Cardiac arrhythmias. Ad Astra Sodertälje Sweden* (1970); 2./ Vaughan-Williams, E., M.: *Frontiers of antiarrhythmic drug therapy. New trends in arrhythmias. IV/3* (1988)

[51] Colatsky, T., J.: Mechanism of action of lidocaine and quinidine on action potential duration in rabbit cardiac Purkinje fibers. *Circ. Res.* 50:17 (1982)

[52] Carmeliet, E., és Saikawa, T.: Shortening of the action potential and reduction of pacemaker activity by lidocaine, quinidine and procainamide in sheep cardiac Purkinje fibers. *Circ. Res.* 50:257 (1982)

nemhogy csökken, de tetemesen megnyúlik [53]. A historikusságon az osztályok átcsoportosításával és lényegi, a hatás-mechanizmust jobban fedő átnevezésével könnyen segíthetünk (4. TÁBLÁZAT, [50][54]). A hierarchikusság és a specialitás egymással szorosan összefüggő tulajdonságok és megszüntetésük sokkal nehezebb feladat. A legfőbb gond ugyanis az, hogy egyetlen antiaritmiás szer sem szelektív. Az újabb vizsgálatok egyre több - korábban egyértelműen besorolt ill. besorolni vélt vegyületről mutatták ki, hogy a fő hatást kiváltó koncentrációnál alig nagyobb mennyiségben más osztály-sajátságokat is produkálnak [55], másrészt - a szívszövet bioelektromos aktivitása sokkal összetettebb, bonyolultan szabályozott folyamat (5. TÁBLÁZAT), semhogy valamely hatóanyag várható eredő hatását néhány kiragadott jellemző alapján (különösen patológiás állapotokban), biztonsággal meg lehetne jósolni. A III. osztály tipikus képviselőjéről, az amiodaronról például tudjuk, hogy milyen körülmények között és milyen arányban mutat I., II., és IV. osztály-sajátságokat is. Mégsem vagyunk képesek pontosan értelmezni, hogy miért oly hatékony a szer a klinikumban. További problémát

[53] Borchard, U., Hafner, D., és Ewerbeck, S.: Electrophysiological and antiarrhythmic actions of tocainide in isolated heart preparations of the guinea pig. *Arzneim. Forsch. Drug. Res.* 35:1376 (1985)

[54] 1./ Carmeliet, E.: Selectivity of antiarrhythmic drugs and ionic channels: A historical overview. *Ann. New York. Acad. Sci.* 427:1 (1984); 2./ Singh, B., N., The mechanism of action of calcium antagonists relative to their clinical applications. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 21:109S (1986); 3./ Spedding, M.: Changing surface charge with salicylate differentiate between subgroups of calcium antagonists. *Br. J. Pharmacol.* 83:211 (1984); 4./ Spedding, M., Calcium antagonists subgroups. *Trends Pharmacol. Sci.* 6:109 (1984); 5./ Vanhoutte, P., M., és Paoletti, R.: The WHO classification of calcium antagonists. *Trends. Pharmacol. Sci.* 8:4 (1987); 6./ Fleckenstein, A.: History of calcium antagonists. *Circ. Res.* 52:13 (1983)

[55] 1./ Hafner, D., Berger, F., Borchard U., Kulmann, A., és Scherlitz, A.: Electrophysiological characterization of the class III activity of sotalol and its enantiomers. New interpretation of use-dependent effects. *Arzneim. Forsch. Drug. Res.* 38-I:231 (1988); 2./ Carmeliet, E.: Electrophysiological and voltage clamp analysis of the effects of sotalol on isolated cardiac muscle and Purkinje fibers. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 232:817 (1984); 3./ Borchard, U., Berger, F., Hafner, D., és Kammer, T.: Inhibitory action of the verapamil-derivative YS035 on repolarizing currents explains its class III-antiarrhythmic activity. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 337S:236 (1988); 4./ Papp J. Gy., Hála O., Virág L. és Szekeres L.: Subsidiary class 4 antiarrhythmic properties of prajmaline. *J. Mol. Cell Cardiol.* 21S-IV:9 (1989); 5./ Hála O. és Papp J. Gy.: Calcium antagonist activity of quinidine and prajmaline compared to that of class IV antiarrhythmics in rabbit aortic smooth muscle. *Pharmacol. Res.* 25-SII:133 (1992); 6./ Cadwell, R., W., Elam, J., T., Mecca, T., E., és Nash, C., B.: Vascular alpha-adrenergic properties of quinidine. *Eur. J. Pharmacol.* 94:185 (1983); 7./ Motulsky, H., J., Maisel, A., S., Sanvely, M., D., és Insel, P., A.: Quinidine is a competitive antagonist at alpha1- and alpha2-adrenergic receptors. *Circ. Res.* 55:376 (1984); 8./ Mason, J., W., Hondegeim, L., M., és Katzung, B., G.: Amiodaron blocks inactivated cardiac sodium channels. *Pfuegers Arch.* 396:79 (1983); 9./ Sada, H., és Ban, T.: Effects of various structurally related beta-adrenoreceptor blocking agents on maximum upstroke velocity of action potential in guinea pig papillary muscles. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 317:245 (1981)

okoz, hogy megfelelő kísérletes modellek hiányában továbbá önmagukban a patológiás állapotokban bekövetkező változásokról rendelkezésünkre álló egzakt ismereteink is gyakran hiányosak.

Az elmondottak alapján jogosan merül fel a kérdés, hogy akkor mégis miért a Vaughan Williams-féle klasszifikációt használjuk. A válasz meglehetősen prózai: 1.) - mert látszólagos összhangot valósít meg az elméleti szakemberek és a szereket használó klinikusok tapasztalatai között és 2.) - mert jelenleg nincs jobb.

2. TÁBLÁZAT

Az antiaritmiás szerek osztályozása Vaughan-Williams nyomán ([50])

I/. Gyors Na-csatorna blokkolók

IA./ Kinidin-csoport:	kinidin dizopiramid prajmalin	prokainamid ajmalin
IB./ Lidokain csoport:	lidokain tokainid	mexiletin
IC./ Propafenon csoport:	propafenon flekainid enkainid	lorkainid etmozin apridin

II./ Szimpatikus bénítók

IIA./ alfa-adrenoceptor antagonisták:	prazosin	
IIB./ béta-adrenoceptor antagonisták:	atenolol l-szotalol	propranolol

III./ Repolarizációt nyújtó szerek:

amiodaron klofilium	d-szotalol
------------------------	------------

IV./ Ca-antagonisták:

verapamil bepridil nifedipin	diltiazem fendilin
------------------------------------	-----------------------

3. TÁBLÁZAT

Az antiaritmiás szerek alap-elektrofiziológiai hatásai

Hatóanyag	Paraméter:					
	dV/dt _{max} (-90 mV)	dV/dt _{max} (-40 mV)	APD ₉₀	ERP	SIN.FRQ	AV.CT
<i>I. osztály</i>						
kinidin	CSÖKKEN	-	NÖ	NÖ	nő+	csökken +
lidokain	csökken	-	CSÖKKEN	NÖ	-	-
propafenon	CSÖKKEN	-	-	NÖ	-	NÖ
<i>II. osztály</i>						
propranolol	-	CSÖKKEN*	nő*	nő*	CSÖKKEN*	NÖ*
<i>III. osztály</i>						
amiodaron	csökken	-	NÖ	NÖ	CSÖKKEN	NÖ
<i>IV. osztály</i>						
verapamil	-	CSÖKKEN	-	-	CSÖKKEN	NÖ
<i>egyéb</i>						
digitoxin	-	-	-	-	CSÖKKEN	NÖ

Jelölés: dV/dt_{max}: az akciós potenciál maximális depolarizációs sebessége a zárójelben feltüntetett membránpotenciál szinteknél; APD₉₀: az akciós potenciál 90 %-os repolarizációs szintnél mért időtartama; ERP: az effektív refrakter szak hossza; SIN.FRQ: szinusz frekvencia; AV.CT: a vezetési idő az atrio-ventrikuláris junkcióban; *: a változások mértéke a szimpatikus tónustól függ; +: antikolinerg hatás; -: a paraméter gyakorlatilag nem változik; kis betűvel szedve: a hatás kis mértékű vagy semmilyen; vastagon szedve: a Vaughan-Williams-féle klasszifikáció szempontjából releváns effektus; a feliratok mérete a hatás erősségére utal



4. TÁBLÁZAT

Az antiaritmiás szerek funkcionális osztályozása

I./ Csatorna-blokkolók:

I.1./ Na-csatorna blokkolók:

I.1.A./ Kinidin-csoport:	kinidin dizopiramid prajmalin	prokainamid ajmalin
--------------------------	-------------------------------------	------------------------

I.1.B./ Lidokain-csoport:	lidokain tokainid	mexiletin
---------------------------	----------------------	-----------

I.1.B./ Propafenon-csoport:	propafenon flekainid enkainid	lorkainid etmozin apridin
-----------------------------	-------------------------------------	---------------------------------

I.2./ Ca-csatorna blokkolók:

I.2.A./ Verapamil-csoport: (fenilalkilamin származékok)	verapamil	gallopamil
--	-----------	------------

I.2.B./ Diltiazem-csoport: (benzotiazepin származékok)	diltiazem	
---	-----------	--

I.2.C./ Nifedipin-csoport: (dihidropiridin származékok)	nifedipin nisoldipin	nimodipin
--	-------------------------	-----------

I.2.D./ Flunnarizin-csoport: (piperazin származékok)	flunnarizin	cinnarizin
---	-------------	------------

I.2.E./ Egyéb: (difenilalkilaminok)	prenilamin lidoflazin fendilin	perhexilin bepridil
--	--------------------------------------	------------------------

I.2./ K-csatorna blokkolók:	amiodaron klofilium	d-szotalol
-----------------------------	------------------------	------------

II./ Receptor-modulátorok:

II.1./ alfa-adrenoceptor-antagonisták:	prazosin	
--	----------	--

II.2./ béta-adrenoceptor-antagonisták:	propranolol atenolol	l-szotalol
--	-------------------------	------------

II.3./ H ₂ -receptor-antagonisták:	cimetidin	
---	-----------	--

II.4./ M-receptor-antagonisták:	atropin	
---------------------------------	---------	--

III./ Szívglükozidok:	digitoxin	digoxin
-----------------------	-----------	---------

dőlt betűvel szedve: nem kifejezetten antiaritmiás szerek; feltüntetésükre pusztán a teljesség kedvéért került sor, - az átmenetet jelzik a vazoaktív Ca²⁺-antagonisták felé.

5. TÁBLÁZAT

A szívszövet bioelektromos aktivitását meghatározó aktív és passzív tényezők

1./ Direkt hatások:

1.1./ Aktív celluláris komponensek:

1.1.1./ Pumpa-funkciók

membrán potenciál

ekvilibríum potenciál

1.1.2./ Csatorna-funkciók

moduláció

aktiváció

inaktiváció

reaktiváció

1.2./ Passzív celluláris komponensek:

1.2.1./ Ion aktivitások

1.2.2./ Membrán ellenállás, membrán kapacitás, "kábel"-sajátságok

1.2.3./ Intercelluláris hatások (kommunikáció)

2./ Indirekt hatások:

Központi idegrendszeri hatások

Vegetatív idegrendszeri hatások

Hormonális hatások

Hemodinamikai hatások

Megjegyzés: Az "aktív" és "passzív" megjelölések a szívszövet ingerlékenységének szempontjából és nem energetikai szempontból értendők. Ennek megfelelően a normál de- és repolarizációt fenntartó idő- és feszültség-függő folyamatokat összefoglalóan aktívnak, míg az ún. passzív membrán tulajdonságokat itt is passzívnak értjük.

A továbbfejlesztésre két út kínálkozik: 1.) az aktív és passzív membrán sajátságokban bekövetkező hatóanyag indukálta változásokat komplexen figyelembevevő rendszerelméleti megfontolások alapján történő újraosztályozás

[56] és 2.) az osztályozási szempontok egyes csoportokon belüli átfogalmazása ill. szűkítése. Az utóbbi lehetőség létjogosultságát támasztja alá az az új törekvés is, hogy az I. osztályba tartozó hatóanyagokat a dV/dt_{max} -APD₉₀-ERP "hatásmintázat" helyett inkább a dV/dt_{max} "use-dependent" gátlásának ill. ezen gátlás megszűnésének sebessége alapján csoportosítsák (6. TÁBLÁZAT) [50],[57]. Az sem kizárt, hogy a jövőben egy komplex terápiái (7. TÁBLÁZAT) és egy elméleti, kutatói igényeket kiszolgáló (4. TÁBLÁZAT), egymás mellett létező osztályozással kell számolnunk.

6. TÁBLÁZAT

A gyors Na-csatorna blokkolók alosztályai a "use-dependent" dV/dt_{max} gátlás kinetikai paramétereinek alapján

Osztály	Hatóanyag	Kialakulás (blokk(%)/akciós potenciál)	Megszűnés (időkonstans)
IA.	kinidin prokainamid disopiramid	5 - 20%	1 - 14sec
IB.	lidokain mexiletin tocainid	> 20%	< 1sec
IC.	propafenon flekainid enkainid lorkainid	< 5%	> 14sec

[56] Arnsdorf, M., F., és Wasswestorm, J., A.,: Mechanisms of action of antiarrhythmic drugs: A matrical approach. in: Fozzard, és mtsai. (Szerk): The heart and the cardiovascular system. Raven Press, New York (1986)

[57] Campbell, T., J.,: Kinetics of onset of rate-dependent effects of Class-I antiarrhythmic drugs are important in determining their effects on refractoriness in guinea pig ventricle, and provide a theoretical basis for their subclassification. Cardiovasc. Res. 17:344 (1983); Curtney, K., R.,: Interval-dependent effects of small antiarrhythmic drugs on excitability of guinea pig myocardium. J. Mol. Cell. Cardiol. 12:1273 (1980)

7. TÁBLÁZAT

Az antiaritmiás szerek osztályozása az aritmia mechanizmusa alapján

Mechanizmus	Érintett fiziológiai paraméter	Hatóanyag csoport	Aritmia típus
1./ Automácia fokozódás			
1.1./ Normál	diasztolés depolarizáció	béta-blokkolók Na-csatorna blokkolók	<i>szinusz tachikardia</i> <i>idiopátiás pitvari tachikardia</i>
1.2./ Abnormális	maximális diasztolés potenciál diasztolés depolarizáció	M2-agonisták M2-agonisták Ca-csatorna blokkolók Na-csatorna blokkolók	<i>ektópiás pitvari tachikardia</i> <i>fokozott idioventrikuláris ritmus</i>
2./ Triggerelt aktivitás			
2.1./ Korai utódepolarizáció	akciós potenciál időtartam a korai utódepolarizáció amplitúdója	béta-agonisták vagolitikumok Ca-antagonisták béta-blokkolók Mg ²⁺	<i>"torsade de points"</i>
2.2./ Késői utódepolarizáció	a késői utódepolarizáció amplitúdója (Ca ²⁺ túlterhelés)	Ca-antagonisták Na-csatorna blokkolók béta-blokkolók Ca-antagonisták adenozin	<i>digitális-aritmia</i> <i>vegetatív mediált kamrai tachikardiák</i>
3./ "Reentry"			
3.1./ Na-csatorna dependens "reentry"			
3.1.1./ Relatív hosszú excitabilis periódus vezetés és ingerlékenység		Na-csatorna blokkolók (lidokaint, mexiletint és tokainidet kivéve) Na-csatorna blokkolók	<i>I-típusú pitvarlebegést</i> <i>WPW-tachikardia</i> <i>fentartott monomorf kamrai tachikardia</i>

(a 7. TÁBLÁZAT folytatása)

Mechanizmus	Érintett fiziológiai paraméter	Hatóanyag csoport	Aritmia típus
	3.1.2./ Relatív rövid excitabilis periódus refrakter szak	K-csatorna blokkolók	<i>II-típusú pitvarlebegés pivar fibrilláció</i>
		repolarizációt nyújtó szerek (amiodaron, szotalol)	<i>WPW-tachikardia</i>
		Na-csatorna blokkolók (kinidin, prokainamid, dizopiramid)	<i>polimorf és fenntartott monomorf kamrai tachikardia</i>
		bretilium	<i>"bundle branch" reentry kamra-fibrilláció</i>
	3.2./ Ca-csatorna dependens "reentry" vezetés és ingerlékenység	Ca-antagonisták	<i>atrio-ventrikuláris reentry WPW-tachikardia verapamil-szenzitív kamrai tachikardia</i>

4./ AZ ANTIARITMIÁS HATÁS-VIZSGÁLAT ELEKTROFIZIOLÓGIAI PARAMÉTEREI INGERELT SZÍVPREPARÁTUMOKBAN

4.1./ A nyugalmi potenciál

A nyugalmi potenciál alapját a sejtmembrán által elválasztott extra- és intracelluláris tér *aktív pumpamechanizmusok* által, direkte vagy indirekte fenntartott eltérő ionkoncentrációi képezik. (A fontosabb ionok extracelluláris koncentrációi mM-ban: $[Na^+]_o = 145$, $[K^+]_o = 4$, $[Ca^{2+}]_o = 2$, $[Cl^-]_o = 120$; míg a megfelelő intracelluláris koncentrációk: $[Na^+]_i < = 15$, $[K^+]_i = 150$, $[Ca^{2+}]_i < = 0.0001$, $[Cl^-]_i = 6$)

4.1.1./ Aktív ionpumpák

4.1.1.1./ A Na^+/K^+ pumpa

A Na^+/K^+ csatolt ionpumpa szimultán mozgat Na és K ionokat elektrokémiai grádiensükkel szemben. A Na^+/K^+ pumpa működéséhez nélkülözhetetlen a K^+ extracelluláris oldal felől történő kötődése, ugyanis ha $[K^+]_o = 0$, a pumpa leáll (Na^+ nem távozik a sejtből). A transzportált Na^+ és K^+ egymáshoz viszonyított aránya 3:3, 3:2 vagy 3:1. 3:3 transzportarány esetén a pumpa elektroneutrális. Amikor viszont K iononként egynél több Na^+ lökődik ki (3:2 vagy 3:1 transzportarány), a Na^+/K^+ pumpa elektrogén - azaz nettó transzmembrán ionáramot generál. A *pumpapotenciál* következtében a szívsejtek nyugalmi potenciálja néhány mV-tal nagyobb az ion-grádiensek és ion-permeabilitások alapján várt *diffúziós potenciál* értékénél. A pumpaműködés energiaigényét szívglikozidokkal specifikusan gátolható ATPáz reakció fedezi. A Na^+/K^+ transzportciklus alatt a (Na,K)-ATPáz Na^+ -dependens foszforiláción majd K^+ -dependens defoszforiláción megy keresztül. Az enzimreakció lezajlásához - a Na^+ -on és K^+ -on kívül, Mg^{2+} jelenléte is szükséges. Az ionpumpa-(Na,K)-ATPáz komplexum gátolhatósága szulfhidril reagensekkel (N-etilmaleinimid), higany-tartalmú diuretikumokkal és etakrinsavval -SH csoportok kitüntetett szerepére mutat. Oligomicin, klórpromazin, szabadgyökök,

lokálanesztetikumok és etanol, továbbá az intracelluláris ATP szintet csökkentő behatások (pl. ischaemia) ugyancsak blokkolják a (Na,K)-ATPáz-t. [58]

A Na^+/K^+ pumpa működésének felfüggesztése azonnal 2-6 mV-os depolarizációt eredményez (a *pumpapotenciál* eltűnik) - az ingerlékenység és akciós potenciál aktivitás azonban relatíve hosszú időn keresztül változatlan marad. 10-20 perces vagy tovább tartó gátlás persze, az extra- és intracelluláris koncentrációk fokozatos kiegyenlítődése miatt, a membrán potenciál értékét (E_m) lassan zérus felé mozgatja. A progresszív depolarizáció a $h_{inf}(E_m)$ összefüggésnek megfelelően (ld. később) fokozatosan csökkenti az aktiváció számára elérhető gyors Na-csatorna hányadot, az ingervezetés és az akciós potenciál maximális depolarizációs sebessége következményesen egyre kisebbé válik, végül az ingerlékenység teljes megszűnése áll be.

A nagy felszín/térfogat aránnyal rendelkező szívsejtekben az $[\text{Na}^+]_i$ és ennek megfelelően a Na^+/K^+ pumpa-aktivitás is jelentősen változhat a szívfrekvencia függvényében.

4.1.1.2./ A Ca^{2+} pumpa

A szarkoplazmatikus retikulum membránja - és kisebb mértékben a tubuláris szarkolemma aktív Ca^{2+} pumpát tartalmaz. A pumpa energiaigényét szolgáltató ATPáz működéséhez, más ATPázokhoz hasonlóan, Mg^{2+} szükséges. A szarkolemmális és retikuláris Ca^{2+} pumpa nagy valószínűséggel különböző típust képvisel. A szarkolemmális Ca^{2+} pumpa aktivitását kalmodulin és foszfolambán, továbbá cAMP (adenozin-(3'5')-ciklikus-monofoszfát) és cGMP (guanozin-(3'5')-ciklusos-monofoszfát) - egy 100 kD molekulatömegű regulátor protein proteinkináz-A ill. proteinkináz-G mediálta foszforilációján keresztül - fokozzák. A szarkolemmális Ca^{2+} -pumpát - amellet, hogy az említett kináz reakciók itt egy

[58] 1./ Swartz, A., Lindenmayer, G., E., és Allen, J., C.: The sodium-potassium adenosine triphosphatase: pharmacological, physiological and biochemical aspects. *Pharmacol. Rev.* 27:3 (1975);
2./ Sperelakis, N.: Origine of the cardiac resting potential. in: *Handbook of Physiology, The Cardiovascular System, Vol.: I. The Heart*, Szerk.: Berne, R., M., Sperelakis, N., Geiger, S., R.; American Physiological Society. Bethesda, Maryland (1979)

140 kD molekulatömegű regulátor proteinnel valósulnak meg, közvetlenül stimulálja a PI-P₂ (foszfoinozitol-difoszfát). [59]

4.1.2./ A Na⁺/Ca²⁺ kicserélődési transzport

A szív ciklus alatt az elektro-mechanikai csatolásban résztvevő Ca²⁺ 20%-a az extracelluláris térből, míg a fennmaradó 80% a szarkoplazmatikus retikulumból származik. Tekintve, hogy a szívsejt membrán Ca²⁺ pumpa aktivitása meglehetősen alacsony, a szarkolemmális Ca²⁺ transzport meghatározó eleme a Na⁺/Ca²⁺ kicserélődés. A kicserélődési transzport elektrogén, a Na⁺/Ca²⁺ transzportarány általában 3:1 - ami csekély mértékű depolarizáló kicserélődési áramban nyilvánul meg. A Na⁺/Ca²⁺ kicserélődés feladata, nyugalmi membránpotenciál szinteknél, az alacsony [Ca²⁺]_i fenntartása ill. helyreállítása. Ezzel szemben, az akciós potenciál plató fázisa alatt, ahol a Na⁺-grádiens már nem képes fedezni a Ca²⁺ efflux energiaigényét, a lassú Ca-árammal együtt, az ún. *aktivátor* Ca²⁺-ot szolgáltatja (reverz kicserélődési diffúzió) [60]. A transzport sebességét az ATP (nem hidrolizált formában) részleteiben nem tisztázott mechanizmussal stimulálja [61]; viszont La³⁺ (feltehetően a Ca²⁺ kötőhelyeknél, kompetitíve) és egy géntechnológiai módszerek felhasználásával újabban szintetizált peptid (specifikusan) gátolja [62].

A kicserélődési transzport aktivitása jellegzetes módon adaptálódik hatóanyag- (krónikus digitális kezelés) ill. ischaemia-indukálta magas

[59] 1./ Eggermont, J., A., Vroloix, M., Raeymeaker, L., és Casteels, R.,: Ca²⁺-transzport ATP-ase of vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* 62:266 (1988); 2./ Eggermont, J., A., Vroloix, M., Wuytack, F., Raeymeaker, L., és Casteels, R.,: The (Ca²⁺-Mg²⁺)-ATPase of plasmamembrane and of the sarcoplasmic reticulum in smooth muscle cells and their regulation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 12S5:S51 (1988)

[60] 1./ Bers, D., M., és Bridge, J., H., B.,: Relaxation of rabbit ventricular myocardium by Na-Ca exchange and sarcoplasmic calcium pump. *Circ. Res.* 65:334 (1989); 2./ Bers, D., M., Lederer, W., J., Berlin, J., R.,: Intracellular Ca transients in rat cardiac myocytes: role of Na-Ca exchange in excitation contraction coupling. *Am. J. Physiol.* 258:C944 (1988); 3./ Leblanc, N., és Hume, J., R.,: Sodium current induced release of calcium from cardiac sarcoplasmic reticulum. *Science* 248:372 (1990)

[61] Hilgemann, D., W.,: Regulation and deregulation of cardiac Na-Ca exchange in giant excised sarcolemmal membrane patches. *Nature* 344:242 (1990)

[62] Li, Z., Nicoll, D., A., Collins, A.,: Identification of a peptide inhibitor of the cardiac Na⁺-Ca²⁺ exchanger. *J. Biol. Chem.* 266:1014 (1991)

intracelluláris Ca^{2+} koncentrációkhoz [63] - és elképzelhető, hogy a transzport-protein elsődleges szerkezetében genetikai alapon bekövetkező torzulás áll az eszenciális hipertenzió hátterében [64].

A $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ és az intracelluláris pH-t reguláló elektroneutrális Na^+/H^+ kicserélődési transzport [2] szoros kapcsolatban áll egymással. A Na^+ elektrokémiai grádiensének csökkenése növeli az intracelluláris H^+ koncentrációt, ami viszont mind nyugalmi, mind az akciós potenciál plató fázisának megfelelő potenciál szinteknél gátolja a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődés sebességét [65].

4.1.3./ A Cl^- megoszlás

A szívsejt membránon keresztül a Cl^- passzívan oszlik meg. A Cl^- ekvilibrium potenciál (E_{Cl}) nyugalomban levő szívszövetben jó közelítéssel egyezik a Nernst-egyenlet alapján számított értékkel ($[\text{Cl}^-]_i = 6 \text{ mM}$ esetén $E_{\text{Cl}} = -80 \text{ mV}$) [66]. Az akciós potenciál alatt azonban, minthogy a membrán potenciál pozitív irányban változik, netto Cl^- influx lép fel, melynek intenzitását a Cl^- konduktancia (g_{Cl}) határozza meg ($I_{\text{Cl}} = g_{\text{Cl}} \cdot (E_m - E_{\text{Cl}})$). A transzmembrán elektromos aktivitás előfeltétele az alacsony g_{Cl} . Magas g_{Cl} , ill. a következményesen fellépő jelentős I_{Cl} ugyanis, "rövidrezárva" a membránt, kompenzálná az akciós potenciál megindulásáért felelős gyors Na-áramot. Elektromosan aktív szívszövetben az átlagos $[\text{Cl}^-]_i$ -t a frekvencia és az akciós potenciál időtartama határozzák meg. Az alacsony g_{Cl} következtében egyetlen akciós potenciál alatt a $[\text{Cl}^-]_i$ elhanyagolható mértékben változik.

[63] Berson M., M., Philipson, K., D.,: Sodium-calcium exchange and sarcolemmal enzymes in ischaemic rabbit hearts. *Am. J. Physiol.* 242:C288 (1982)

[64] Blaustein, M., P.,: Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension: A reassessment and a hypothesis. *Am. J. Physiol* 232:C165 (1977)

[65] 1./ Baker, P., és F., McNaughton, P., A.,: Selective inhibition of the Ca-dependent Na efflux from intact squid axons by a fall in intracellular pH. *J. Physiol.* 269:78 (1977) 2./ DiPolo, R., és Beangé, L.,: The Effect of pH on Ca^{2+} extrusion mechanisms in dialysed squid axons. *Biochim. Biophys. Acta.* 6-S8:237 (1982)

[66] 1./ Fozzard, H., A., és Lee, C., O.,: Influence of changes in external potassium and chloride ions on membrane potential and intracellular potassium activity in rabbit ventricular muscle. *J. Physiol. (London)* 256:663 (1976); 2./ Macchinon, D., D., Polimni, P., I., és Page, E.,: Cellular Cl current and concentration in amphibian skeletal and heart muscle. *Am. J. Physiol.* 253:C128 (1978)

Régóta vizsgálat tárgyát képezi azon csábító hipotézis igazolása, hogy a membrán Cl konduktanciáját is csatorna-funkció szabályozza ($g_{Cl}(E_m, t)$). Cl-áram (i_{Cl}) kimutatása azonban, meggyőzően, csak a legutóbbi időkben sikerült. A rendszerint csekély i_{Cl} -t adrenerg receptor aktiváció nagy mértékben fokozza [67]. Az i_{Cl} megnövekedése nyugalmi potenciál szintnél gyorsítja a diasztolés depolarizációt - ezzel szemben, az E_{Cl} feletti tartományokban, a repolarizációt segíti elő.

4.1.4./ A nyugalmi potenciált meghatározó összefüggés

A membránpotenciált, feltéve, hogy a megfelelő ion-koncentrációk állandók, az alábbi egyenlet határozza meg:

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{2P'_{Ca}[Ca]_o + P_K[K]_o + P_{Na}[Na]_o + P_{Cl}[Cl]_i}{2P''_{Ca}[Ca]_i + P_K[K]_i + P_{Na}[Na]_i + P_{Cl}[Cl]_o}$$

ahol:

$$P'_{Ca} = \frac{P_{Ca}}{e^{(E_m \cdot F)/(R \cdot T)} + 1}$$

$$P''_{Ca} = P_{Ca} - P'_{Ca}$$

és

R (az egyetemes gázállandó)

T (az abszolút hőmérséklet)

F (a Faraday-állandó)

P_i (az indexben jelzett ionra vonatkozó membránpermeabilitás)

Az összefüggés transzcendens természete miatt - a $P'_{Ca}(E_m)$ és $P''_{Ca}(E_m)$ függvényértékek előzetes becslése ill. kísérletes meghatározása nélkül, a membránpotenciál azonban nem számítható ki. Szerencsére a normál (-90 mV) nyugalmi potenciál környezetében $P_{Ca} \approx P'_{Ca} \approx P''_{Ca}$ - így itt a formula elfogadható eredményt fog szolgáltatni akkor is, ha kizárólag a feszültségfüggetlen kalcium permeabilitással (P_{Ca}) dolgozunk.

[67] Harvay, R., D., Clark, C., D., és Hume, J., R.,: Chloride current in mammalian cardiac myocytes. J. Gen. Physiol. 95:1077 (1990)

Ha az ion koncentrációk nincsenek ekvilibriumban, továbbá intenzív Na^+/K^+ pumpa és $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődési transzport működéssel számolunk [68], az $E_m([\text{Ca}^{2+}], [\text{K}^+], [\text{Na}^+], [\text{Cl}^-]; P_{\text{Ca}} \approx P'_{\text{Ca}} \approx P''_{\text{Ca}})$ függvény az alábbi alakot ölti :

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{2r_{(\text{Na}/\text{Ca})} f_{\text{Ca}} P_{\text{Ca}} [\text{Ca}]_o + r'_{(\text{Na}/\text{K})} (f_{\text{K}}/f_{\text{Na}}) P_{\text{K}} [\text{K}]_o + P_{\text{Na}} [\text{Na}]_o + P_{\text{Cl}} [\text{Cl}]_i}{2r_{(\text{Na}/\text{Ca})} f_{\text{Ca}} P_{\text{Ca}} [\text{Ca}]_i + r'_{(\text{Na}/\text{K})} (f_{\text{K}}/f_{\text{Na}}) P_{\text{K}} [\text{K}]_i + P_{\text{Na}} [\text{Na}]_i + P_{\text{Cl}} [\text{Cl}]_o}$$

ahol:

$$\begin{aligned} r &= I_{(\text{Na}, \text{Na}/\text{Ca})} / I_{(\text{Ca}, \text{Na}/\text{Ca})} && \text{(a kicserélődési Na és Ca áramok hányadosa)} \\ r' &= I_{(\text{Na}, \text{N}/\text{K})} / I_{(\text{K}, \text{Na}/\text{K})} && \text{(a pumpa Na és K áramok hányadosa)} \\ f_{\text{Ca}} &= I_{(\text{Ca}, \text{Na}/\text{Ca})} / I_{\text{Ca}} && \text{(a kicserélődési és a háttér Ca áram hányadosa)} \\ f_{\text{Na}} &= I_{(\text{Na}, \text{Na}/\text{K})} / (I_{(\text{Na}, \text{Na}/\text{Ca})} + I_{\text{Na}}) && \text{(a pumpa és a többi Na áram hányadosa)} \\ f_{\text{K}} &= I_{(\text{K}, \text{Na}/\text{K})} / I_{\text{K}} && \text{(a pumpa és a háttér K áram hányadosa)} \end{aligned}$$

A fenti modell szerint, ha a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődés több Ca^{2+} -ot transzportál kifelé, mint amennyi az intracelluláris térbe szívárog ($f_{\text{Ca}} > 1$) a membrán depolarizálódik. A depolarizáció mértékét az fogja megszabni, hogy a többi ion-fluxus hogyan, milyen ütemben éri el az újabb egyensúlyi állapotot. A megnövekedett Ca^{2+} efflux egyúttal tehát az $[\text{Na}^+]_i$ megemelkedését vonja maga után. Amint azonban az $[\text{Na}^+]_i$ nő - feltéve, hogy a Na^+/K^+ pumpa relatíve messze van teljesítőképessége felső határától - fokozódni fog az aktív Na^+/K^+ transzport sebessége is. A fokozott $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődés által indukált depolarizációt végülis az aktívabb Na^+/K^+ pumpa hiperpolarizáló hatása egyensúlyozza ki. A rendszer Na^+ -ra nézve egyensúlyban lesz, Ca^{2+} -ra és K^+ -ra azonban nem.

Amikor viszont a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődés fordított irányba működik ($f_{\text{Ca}} < 0$) a transzport-áram (é.i.: több töltés távozik a sejtől, mint amennyi belép) a negatívabb szintek felé fogja mozgatni a membránpotenciált. Ez pedig, az új egyensúly elérése érdekében deprimálni fogja a (Na, K)-ATPáz aktivitást és ezáltal következményesen mérsékli a hiperpolarizáló pumpaáramot is.

[68] Sjodin, R, A.: Contribution of Na/Ca transport to resting membrane potential. J. Gen. Physiol. 76:99 (1980)

Olyan patológiás ill. experimentális állapotokban, amelyekben a (Na, K)ATPáz kevés tartalékkal rendelkezik (hipoxia, ischemia, szívglikozid intoxikáció) az excitabilitás viszont többé-kevésbé sértetlen, a kiváltott akciós potenciál keltette $[Ca^{2+}]_i$ perturbáció által beindított fluxus-átrendeződések időbeli lezajlásának különbségeiből adódóan, depolarizáló membránpotenciál ingadozásokat generálhat. A membránpotenciál ingadozás a $[Ca^{2+}]_i$ perturbáció mértékével - azaz végülis a stimulálás frekvenciájával lesz arányos (*triggerelt aktivitás*).

4.2./ A gyors Na-árammal kapcsolatos jellemzők

Miokardiumban és Purkinje-rostokban az akciós potenciál felszálló szárát erőteljes, grádiens irányú ionáram hozza létre, amely Na^+ -szelektív ioncsatornák átmeneti megnyílása következtében lép fel [69].

A klasszikus Hodgkin-Huxley modell [29] szerint az *átmeneti megnyílás* csatornánként három un. *aktivációs* (m), és egy un. *inaktivációs kapu* (h) feszültség- és idő-függő kinyílásán ill. bezáródásán keresztül valósul meg. Nyugalmi membránpotenciál szintnél az m csukott, a h kapu viszont nyitott állapotban van (*nyugalmi állapot*). Ha valamilyen oknál fogva a membrán az un. *küszöb potenciál* fölé depolarizálódik, az m kapu kinyílik, a h viszont (jóval lassúbb kinetikát követve) becsukódik, és a csatorna un. *inaktív állapotba* kerül. A csatorna aktív volta értelemszerűen azt a tranziens állapotot jelenti, amikor az m már kinyílt, de a h még nem zárta el a Na^+ influx útját. Az aktív szakban beáramló Na^+ tovább depolarizálja a membránt, ami újabb csatornákat nyit meg. A végső eredmény egy sajátságos, s-alakú hullámfront, az akciós potenciál felszálló szára.

A szívizom rost valamely pontján fellépő transzmembrán töltésmozgás longitudinális áramot indukál, melynek intenzitása az alábbi összefüggéssel adható meg:

$$i_x = \frac{1}{r_x} * \frac{dV}{dx}$$

[69] 1./ Colatsky, T., J.,: Voltage-clamp measurements of sodium channel properties in rabbit cardiac Purkinje fibres. J. Physiol. 305:215 (1980); 2./ Brown, A., Lee, K., S., és Powell, T.,: Sodium current in single rat heart muscle cells. J. Physiol. 318:479 (1981); 3./ Ebihara, L., Shigeto, N., Liebermann, M., és Johnson, E., A.,: The initial inward current in spherical clusters of chick embryonic heart cells. J. Gen. Physiol. 75:473 (1980); 4./ Colatsky, T., J., és Tsien, R., W.,: Sodium channels in rabbit cardiac Purkinje fibres. Nature (London) 278:265 (1979)

ahol:

$$\frac{dV}{dx} \quad (\text{a tengely irányú feszültség-grádiens})$$

$$r_x \quad (\text{a rost belső ellenállása})$$

A membránáram ugyanakkor egyenlő a longitudinális áram grádiensével:

$$i_m = \frac{di_x}{dx}$$

azaz,

$$i_m = \frac{1}{r_x} * \frac{d^2V}{dx^2}$$

Feltéve, hogy a membrán ellenállásokból és kondenzátorokból felépített létrahálózattal helyettesíthető, a totál membránáram egy kapacitív (i_c) és egy ionáram (i_j) komponensre bontható:

$$i_m = i_c + i_j$$

Mint ahogy:

$$i_c = C_m * \frac{dV}{dt}, \quad (\text{ahol } C_m \text{ a membránkapacitás})$$

$$i_m = C_m * \frac{dV}{dt} + i_j$$

ill.

$$\frac{1}{r_x} * \frac{d^2V}{dx^2} = C_m * \frac{dV}{dt} + i_j$$

Felhasználva, hogy x kifejezhető a vezetési sebességgel (S ; $dx^2 = S^2 * dt^2$):

$$\frac{1}{r_x * S^2} * \frac{d^2V}{dt^2} = C_m * \frac{dV}{dt} + i_j \quad (\text{kábel egyenlet})$$

Ahol a $dV(t)/dt$ függvénynek maximuma van, ott $d^2V/dt^2 = 0$, vagyis:

$$C_m * \left. \frac{dV}{dt} \right|_{\max} = -i_i$$

Az akciós potenciál felszálló szárára koncentrálnva tehát, azon t időpontban amikor az idő szerinti első derivált maximumon van, a dV/dt_{\max} egyenesen arányos a fennálló ionáram intenzitásával. Jóllehet ezen összefüggés rendkívül tetszetős, az ionáram elérhetőségének (*aktiválhatóság*) jellemzésére (amint azt sokan vélik) egyáltalán nem - vagy csak speciális kísérletes feltételek közepette alkalmazható.

Az egyik ok az alap-egyenlet hibás értelmezése. Az *aktiválhatóság* ugyanis időfüggetlen jellemző (é.i.: egy határérték). A levezetett összefüggés pedig csupán azt mondja, hogy ezen *aktiválhatóság*-hoz konvergáló idő-függvény a $t(dV/dt = \text{maximum})$ időpontban keresztül megy a $C_m * (dV/dt)$ ponton.

Problémát jelent a membránkapacitás konstansként történő kezelése is. A szívsvövet komplex geometriája miatt ugyanis a C_m bizonyosan frekvencia (azaz dV/dt) függő [70].

A dV/dt_{\max} és a gyors Na-csatorna elérhetőségének viszonyát voltage-clamp kísérletekben szokás elemezni. Az intracelluláris mikroelektród és voltage-clamp technikával nyert adatok direkt összevetése azonban messzemenően helytelen. Az akciós potenciál felszálló szára alatt funkcionáló gyors Na-áram nem azonos a voltage-clamp eljárás feltételei mellett mért csúcsárammal [71]. Voltage-clamp elrendezésben ugyanis a membránt - a Na^+ csatorna teljes mértékű aktivációját lehetővé tevő időtartamig - meghatározott, stabil potenciálszintekre depolarizálják. Az akciós potenciál alatt viszont a gyors Na^+ áram saját maga számára generálja a potenciál "lépcsőket" - így itt (a folyamat gyorsasága miatt) a Na^+ -áram intenzitása jócskán az elérhető csúcsérték alatt marad. A lemaradás értelemszerűleg annál nagyobb, minél gyorsabb a felszálló szár adott pontjában a

[70] Walton, M., és Fozzard, H., A.: Experimental study of the conducted action potential in canine Purkinje strands. *Biophys. J.* 44:1 (1983)

[71] Cohen, C., J., Daytner, N., B., Gintant, G., A., Mulrine, H., K., Pennefather, P., A.: A note on the relation of the maximum upstroke velocity to peak inward current recorded by the voltage clamp. *Circ. Res.* 57:482 (1985)

depolarizáció (általában 20-60%-ig; [72]). Ez egyben implicite azt is jelenti, hogy minden, a maximális depolarizációs sebességet (ill. az elérhető Na^+ csatornák számát) csökkentő beavatkozás csökkenti a kétféle metodikával kapott értékek eltérését. Fiziológiai szemszögből, az adott membrán potenciál szintnél ténylegesen elért és a maximális aktivitás közötti különbség képezi azon tartalékot, amely révén az ingerlékenység - fiziológiás ill. patológiás változások széles tartományán keresztül - megőrizhető (*safety-factor*; [73]).

A kísérletes körülmények alkalmas megválasztásával az említett problémák hatásai minimalizálhatók. Ha 1.) a mikroelektrodot a kísérlet teljes időtartamán keresztül ugyanazon sejtben tartjuk; ha 2.) a stimuláló elektródhoz annyira közel "szúrjuk meg" a preparátumot, amennyire csak lehetséges; ha 3./ a stimulus erősségét úgy állítjuk be, hogy (különösen hatóanyag-vizsgálatok során) a teszt és a kontroll vezetési sebesség ne különbözzék számottevően; ha 4./ mindig relatív dV/dt_{\max} változásokkal számolunk és, ha 5./ a Na^+ -ra fennálló elektrokémiai gradiens esetleges megváltozását korrekcióba vesszük - az akciós potenciál felszálló szárának maximális depolarizációs sebessége elhanyagolható hibával fogja mutatni a gyors Na -áram elérhetőségét [74].

A Na -csatorna jellemzésének egyik módja a vonatkozó áram-feszültség összefüggés meghatározása. Az ún. **akciós áram-feszültség összefüggés**, a standard mikroelektrod technika feltételei mellett, legegyszerűbben a **fázissík görbe** depolarizációs tartományából származtatható [75]:

[72] 1./ Cohen, C., J., Bean, B., P., Tsien, R., W.,: Maximum upstroke velocity as an index of available sodium conductance. *Circ. Res.* 54:636 (1984); 2./ Sheets, M., F., Hank, D., A., Fozzard, H., A.,: Nonlinear relationship between V_{\max} and I_{Na} in canine Purkinje cells. *Circ. Res.* 63:386 (1988)

[73] Walton, M., Fozzard, H., A.,: The conducted action potential: models and comparison to experiments. *Biophys. J.* 44:9 (1983)

[74] 1./ Gettes, L., S., Reuter, H.,: Slow recovery from inactivation of inward currents in mammalian myocardial fibres. *J. Physiol.* 240:703 (1974); 2./ Walton, M., és Fozzard, H., A.,: The relation of V_{\max} to I_{Na} , G_{Na} and h_{inf} in a model of cardiac Purkinje fiber. *Biophys. J.* 25:407 (1979); 3./ Romberge, F., A., és Drouhard, J., P.,: Using V_{\max} to estimate changes in the sodium membrane conductance in cardiac cells. *Comp. Biomed. Res.* 20:351 (1987); 4./ Spatch, M., S., Dolberg, C., és Heidlage, F.,: Influence of the passive anisotropic properties on directional differences in propagation following modification of sodium conductance in human atrial muscle (a model of reentry based on anisotropic discontinuous propagation). *Circ. Res.* 62:811 (1988); 5./ Spatch, M., S., Miller, W., T., Geselowitz, D., B., Barr, R., C., Kootcy, J., M., és Johnson, E., A.,: The discontinuous nature of propagation in normal canine cardiac muscle. *Circ. Res.* 48:39 (1981); 6./ Sperelakis, N., és Mann, J., E.,: Evaluation of electrical field changes in cleft between excitable cells. *J. Theoret. Biol.* 64:71 (1977)

[75] 1./ Jenerik, H.,: Phase-plane trajectories of the muscle spike potential. *Biophys. J.* 3:363 (1963); 2./ Inoue, F.,: Membrane ionic current of the propagated action potential: A new method. *Jap. J. Physiol.* 21:601 (1971)

Éljünk a kábel egyenlet esetében a következő helyettesítéssel:

$$\frac{d^2v}{dt^2} = \frac{d}{dv} \frac{dv}{dt} * \frac{dv}{dt} = \frac{dv'}{dv} * v'$$

Ekkor adódik, hogy:

$$\frac{1}{r_x * s^2} * \frac{dv'}{dv} * v' - C_m * v' = i_j \quad (*)$$

ill.

$$C_m * (k * \frac{dv'}{dv} - 1) * v' = i_j$$

ahol:

$$k = \frac{1}{C_m * r_x * s^2}$$

és $\frac{dv'}{dv}$ a fázissík hurok feszültség szerinti első deriváltja.

Az áram-feszültség összefüggés fázissík trajektóriából történő előállítása mindazonáltal semmilyen különösebb előnyt nem jelent. A meghatározáshoz (nem számítva C_m és S aktuális értékének becslését) ki kell számítanunk az akciós potenciál depolarizációs fázisának megfelelő idő szerinti első derivált pontjait, majd képezni kell annak feszültség szerint vett első deriváltját. Véleményünk szerint ugyanazon (a deriválások és a paraméter-becslések miatt súlyos hibával terhelt) eredményhez jutnánk, ha az $i_j(t)$ közvetlenül az átalakítatlan kábel egyenlet szerint nyernénk (*) majd ábrázolnánk az $i_j(V(t))$ függvényt.

A Na-csatorna inaktivációs folyamatát Hodgkin és Huxley analízise szerint [29] egy $h(V_m, t)$ "változó" determinálja. A **steady-state inaktiváció** (t praktikusán végtelen),

$$h_{inf}(V) = \frac{1}{1 + e^{a * (V - b)}}$$

meghatározása nem-voltage clamp körülmények között a következő módon történik: A membránt különböző nagyságú, olyan időtartamú *kondicionáló potenciálok* után, hogy az inaktiváció egyensúlyi értékét elérje, konstans, a Na-csatornát teljes mértékben aktiváló *teszt* potenciálra depolarizálják és megméri a fellépő áram-tranziens amplitúdóját. A kondicionáló potenciál - áram amplitúdó összefüggés a steady-state inaktivációs görbét fogja adni. A $h_{inf}(V)$ -t a standard mikroelektród technika feltételei között is megkaphatjuk. Ilyenkor a membránpotenciált a tápoldat K^+ koncentrációjának változtatásával állítjuk be, és a Na-áram nagyságára a kiváltott akciós potenciálok maximális depolarizációs sebességéből következtetünk. Jóllehet a dV/dt_{max} ilyen irányú felhasználása nem teljesen korrekt - a kivitelezés egyszerűsége miatt, különösen antiaritmiás szerek rutinszerű vizsgálatára - a módszer széles körben elterjedt.

Feltéve, hogy a frekvencia-függő hatásokat kiküszöböljük, adott [D] hatóanyag-koncentráció jelenlétében az alábbi összefüggés érvényes:

$$h_{inf}(V) = \frac{dV/dt_{max,e}}{dV/dt_{max,r}} = \frac{1}{1 + \left(1 + \frac{[D]}{K_d}\right) * e^{a * (V - b)}}$$

ahol $dV/dt_{max,r}$ ill. $dV/dt_{max,e}$ a reguláris ill. az extra akciós potenciál maximális depolarizációs sebessége, a az un. meredekségi faktor, V a nyugalmi potenciál, b az un. félérték potenciál és K_d a hatóanyag inaktív állapotban levő csatornákra vonatkozó disszociációs állandója [76].

Voltage-clamp kísérletekben, az inaktivációból történő helyreállást leíró időfüggvény előállításakor a membránt először a gyors Na^+ áramot teljes mértékben inaktiváló un. *holding potenciálra* depolarizálják. Ezután különböző időtartamú, a gyors Na^+ áram nyugalmi tartományába eső *kondicionáló feszültség* szint

[76] Starmer, F., C., Nesteremko, V., V., Umdrovinas, A., I., Packer, D., L., Gillam, F., R., Rosenshtraukh, L., V., és Strauss, H., C.: Characterizing ion channel blockade with the guarded receptor hypothesis. in: Hondeghem, L., (Szerk.): Molekular and cellular mechanisms of antiarrhythmic agents. Futura Publishing Co. Mount Kisko, Mew York (1989)

beállítása, majd aktiváló, un. *teszt potenciál-ugrás* következik. A teszt potenciál sejtmembránra kényszerítésekor megjelenő áram-tranziens amplitúdóját a kondicionáló-potenciál időtartamának függvényében felrajzolva, megkapjuk az inaktivációból történő helyreállítás időbeli lefutását. Ha átgondoljuk a voltage-clamp kísérlet menetét, azonnal észrevesszük, hogy - a mikroelektród technika körülményei között - a holding potenciálnak a megelőző akciós potenciál platófázisa, a teszt-potenciálra ugrásoknak pedig a reguláris akciós potenciál után különböző kapcsolási idővel kiváltott extra akciós potenciálok felelnek meg. Az áram-tranziens nem-voltage-clamp analogonja természetesen az extra akciós potenciál maximális depolarizációs sebessége. Csodát persze nem várhatunk a nem-voltage-clamp megoldástól. A kísérletes körülményekből adódóan minden bizonnyal itt a legnagyobb a tényleges Na^+ - áram és a dV/dt_{max} devianciája.

Végezetül, csupán megemlíjtük, hogy az **akciós potenciál amplitúdója** szoros, de semmiesetre sem lineáris kapcsolatban áll a gyors Na-csatornák elérhetőségével és a vonatkozó inaktivációs folyamat feszültség szenzitivitásával.

Számos toxin ill. hatóanyag elsődleges támadáspontja a gyors Na csatorna. Az ilyen természetű szerek - a hatásmechanizmus eltérései alapján - hat csoportba sorolhatók (v.ö. a 2./ fejezettel) - ill. megfordítva, a csoport sajátságok alapján hat különböző kötőhely identifikálható magán a csatorna-komplexumon. A guanidin bázisú toxinok (tetrodotoxin, saxitoxin) a csatorna extracelluláris oldal felőli beszájadzásához közeli ponton, a csatornaállapottól többé-kevésbé független aktivitással meggátolják a Na ionok mozgását (1. kötőhely). A batrakotoxin, a veratridin és az akonitin (gyűjtőnéven lipofil toxinok) hiperpolarizálják az aktivációs folyamatot és ezzel párhuzamosan, blokkolják az inaktivációt (2. kötőhely). Az alfa-skorpiótoxinok valamint az annemonetoxin kvázi nyitott állapotban rögzítik az inaktivációs kaput (3. kötőhely). A béta-skorpiótoxinok ezzel szemben csak az inaktivációs kapu működését gátolják (4. kötőhely). A lokálanesztetikumok (ideértve az I. osztályba tartozó antiaritmiás szereket is; ld. 2. és 3.4. fejezeteket) állapot-dependens affinitással inaktiválják a gyors Na-csatornákat (5. kötőhely). Az említetteken kívül, specifikus kötőhely mutatható ki a piretroid típusú insekticid vegyületek esetében is (6. kötőhely). Az egyes kötőhelyek alloszterikusan modulálják egymás hatóanyaggal szembeni affinitását. Az annemone v alfa-skorpiótoxin kötődése például fokozza, míg a lokálanesztetikumok gátolják a lipofil toxinok hatékonyságát [77].

[77] Hille, B.,: Ionic channels of excitable membranes. Sinauer Assoc. Inc. Sunderland, Mass (1984)

4.3./ A lassú-válasz

Az akciós potenciál plató fázisát fenntartó befeléménő makroszkópikus Ca-áram két összetevőre bontható. Az egyiket már relatíve alacsony membránpotenciál színtről induló gyenge depolarizációk (-60 ill. -50 mV-ra) is beindítják, ugyanakkor viszonylag gyorsan meg is szűnik (inaktivációs időállandó: 5-30 ms; *transiens Ca-áram, T-típusú Ca-csatornák*; [78]). A másik -20, -30 mV-os feszültségtartományban aktiválódik és - legalábbis Ba^{2+} jelenlétében - időben meglehetősen elnyújtott áramot indukál (átlagos időállandó: 100-300 ms; *long-lasting Ca-áram, L-típusú Ca-csatornák*). Az L-típusú Ca-csatornák, a tisztán Ca^{2+} jelenlétében mért áram durván kétszeresét generálják ekvivalens Ba^{2+} koncentrációkkal. A T-típusú Ca-csatornák esetében a töltéshordozó ion Ba^{2+} -ra cserélése nem változtatja meg az áram intenzitását. 100 mM Ba^{2+} -ot tartalmazó médiumban ugyanakkor a T-típusú Ca-csatornák konduktanciája az L-típusú csatornákénak megközelítően fele ([78], [79]). Az L-típusú csatornák működését alacsony Cd^{2+} koncentrációk hatékonyabban, Ni^{2+} viszont kevésbé gátolja ([74], [79], [80]). A La^{3+} ezzel szemben azonos mértékben gátolja mindkét csatornatípust ([79], [81]). Amennyiben a tápoldatban a kétértékű kationok koncentrációját kelátképzőkkel mikromoláris érték alá szorítjuk, mindkét csatornatípus nagy mértékben átjárhatóvá válik Na ionok számára [82]. Az egy és kétértékű kationokkal végzett vizsgálatok eredményei arra látszanak utalni, hogy

[78] Nilius, B., Hess, P., Lausman, J., B., Tsien, R., W.,: A novel type of cardiac calcium channels in ventricular cells. *Nature* 316:443 (1985)

[79] Hagiwara, N., Irsawa, H., Kameyama, M.,: Contribution of two types of calcium currents to the pacemaker potentials of rabbit sino-atrial node cells. *J. Physiol.* 395:233 (1988)

[80] 1./ Mitra, R., Morad, M.,: Two types of calcium channel in guinea-pig ventricular myocytes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 83:5340 (1986)

[81] Bean, B., P.,: Two kinds of calcium channels in canine atrial cells. Differences in kinetics, selectivity and pharmacology. *J. Gen. Physiol.* 81:1 (1985)

[82] 1./ Hess, P., Tsien, R., W.,: Mechanism of ion-permeation through calcium channels. *Nature* 309:1984; 2./ Matsuda, H.,: Sodium conductance in calcium channels of guinea pig ventricular cells induced by removal of external calcium ions. *Pflügers Arch.* 407:365 (1986); 3./ Fukushima, Y., Hagiwara, S.,: Currents carried by monovalent cations through calcium channels in mouse neoplastic B lymphocytes. *J. Physiol. (London)* 385:255 (1985); 4./ Chen C., Hess, P.,: Calcium channels in mouse 3T3 and human fibroblasts. *Biophys. J.* 51:266 (1987)

az L és T-típusú Ca-csatornák pórusukon belül két Ca^{2+} -kötőhellyel rendelkeznek. Másrészt, a két csatornatípus közötti különbségek ezen Ca^{2+} -kötőhelyek tulajdonságaiban mutatkozó apró eltéréseknek tudható be [83].

A lassú Ca-csatornák működése a Na-csatornákéra emlékeztet abban az értelemben, hogy aktivációs és inaktivációs kapuval egyaránt rendelkeznek. Csakhogy amíg a T-Ca-csatornák inaktivációja kizárólag feszültség-függő, addig az L-Ca-csatornák a membránpotenciál tartós megemelkedése és a megnövekedett intracelluláris Ca^{2+} koncentráció egyaránt inaktiválják. Ezzel összhangban az L-Ca-csatornák mindaddig nem is reaktiválhatók, amíg a citoszol szabad Ca^{2+} szintje eredeti értékére vissza nem áll [84].

Harald Reuter 1967-es úttörő vizsgálatai óta ismert, hogy béta-adrenoreceptor stimuláló ill. általánosabban minden cAMP mobilizáló receptor aktiváció fokozza a L-Ca-áram depolarizáció-indukált intenzitását [85]. A T-Ca-csatornák esetében hasonló moduláló mechanizmust mindezideig nem bizonyítottak - ami egyrészt talán annak tulajdonítható, hogy a T-Ca-áram elkülönítése a sokkal intenzívebb L-Ca-áramtól meglehetősen nehéz, másrésztől nem zárható ki, hogy a T-Ca-csatornák más receptorok, más *second-messengereken* keresztül regulálják. Ezen utóbbi vonatkozásban helyénvaló

[83] Tsien, R., W., Hess, P., McClaskey, E., W., és Rsenberg, R., L.: Calcium Channels: Mechanisms of selectivity, permeation and block. *Ann. Rev. Biophys. Chem.* 16:265 (1987)

[84] 1./ Carbone, E., és Lux, H., D.: Single low-voltage-activated channels in chick and rat sensory neurons. *J. Physiol.* 386:571 (1987); 2./ Lee, K., S., Marban, E., és Tsien, R., W.: Inactivation of calcium channels: Joint dependence on membrane potential and intracellular calcium. *J. Physiol.* 364:395 (1985); 3./ Ganitkevich, V., Y., Shuba, M., F., és Smirnov, S., V.: Calcium dependent inactivation of potential-dependent calcium inward current in an isolated guinea-pig smooth muscle cell. *J. Physiol.* 392:432 (1987)

[85] 1./ Reuter, H.: The dependence of the slow inward currents on external calcium concentration in Purkinje fibres. *J. Physiol. (London)* 192:479 (1967); 2./ Reuter, H.: Calcium channel modulation by beta-adrenergic neurotransmitters in the heart. *Experientia.* 43:1173 (1987)

megemlíteni, hogy szívsejtekben a makroszkópikus Ca-áramot angiotenzin II, alfa₁-adrenerg agonisták, acetilkolin adenzin és ATP jelenléte szintén befolyásolja [86].

A tetrametrin nem számítva, a ma ismeretes természetes és szintetikus Ca-antagonisták (é.i.: olyan hatóanyagok amelyek 1./ szelektíve gátolják a feszültségfüggő Ca-áramot és 2./ a gátlás a $[Ca^{2+}]_o$ növelésével - bizonyos koncentráció tartományon belül - ellensúlyozható [87]) jóval gyengébben vagy egyáltalán nem hatnak a T-Ca-csatornákon ([79], [88]).

Triciált hatóanyagokkal végzett *binding-analízisek* eredményei alapján az L-Ca-csatornán egy fenilalkilamin, egy benzothiazepin és egy dihidropiridin kötőhely lokalizálható. A dihidropiridin kötőhely aktivitásához nélkülözhetetlen Ca^{2+} jelenléte. Más kationok, ugyanezen kötőhely hatóanyaggal szembeni affinitását koncentráció-dependens módon fokozzák ill. deprimálják. (Például Ba^{2+} , továbbá közepes vagy magas Mn^{2+} , Co^{2+} és La^{3+} koncentrációk gátolják, de igen alacsony La^{3+} és Co^{2+} koncentrációk elősegítik a jelzett nitrendipin kötődését.) A három kötőhely között alloszterikus interakciók állnak fenn. A dihidropiridin kötőhelyről történő disszociációt a fenilalkilaminok gyorsítják, a diltiazem viszont gátolja [89].

Ha a konvencionális mikroelektrod technika feltételei között lassú Ca-áram mediált akciós potenciálokat (lassú válasz) ill. arra irányuló szerhatásokat kívánunk elemezni, mindenekelőtt a gyors Na-áramot kell valamilyen módon eliminálnunk. Erre két lehetőség kínálkozik: a.) szelektív gátlószerezrel (pl.

[86] 1./Kass, R., S., és Blair, M., L.: Effect of angiotenzin II on membrane currents in canine Purkinje fibres. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 13:797 (1981); 2./ Alvarez, J., L., Mngo, K., G., és Vassort, G.: Effect of alpha-1-adrenergic stimulation on the Ca-current in single ventricular frog cells. *Proc. Physiol. Soc. march.* (1987); 3./ Giles, W., Noble, S., J.: Changes in membrane currents in bullfrog atrium produced by acetylcholine. *J. Physiol. (London)* 261:103 (1976); 4./ Hescheler, J., Kameyama, M., és Trautwein, W.: On the mechanism of muscarinic inhibition of the cardiac Ca-current. *Pflügers Arch.* 407:182 (1982)

[87] 1./ Fleckenstein, A.: Specific inhibitors and promoters of calcium action in excitation-contraction coupling of heart muscle and their role in prevention or production of myocardial lesions. in: Harris, P., és Opie, L., (Szerk.): *Calcium and the heart.* Academic Press, New York (1971); 2./ Fleckenstein, A.: History of calcium antagonists. *Circ. Res.* 52:13 (1983)

[88] 1./ Tsukoo, A., Yoshii, M., és Narahashi, T.: Differential block of two calcium channels in neuroblastoma cells. *Biophys. J.* 47:433 (1985); 2./ Nayler, W., G.: *Calcium antagonists.* Academic Press, New York (1988)

[89] Dompert, W., V., és Traber, J.: Binding sites for dihydropyridine calcium antagonists. in: Opie, L., H., (Szerk.): *Calcium Antagonists and cardiovascular disease.* Raven Press, New York (1984)

tetrodotoxin) kiváltott blokk és b.) a membrán -40 mV közelébe történő depolarizálásával indukált inaktiváció. A b.) módszer, - feltéve, hogy homogén, Ca-antagonista szenzitív Ca-árammal akarunk dolgozni - egyértelműen jobb. Az erőteljes depolarizáció (amit nem-voltage-clamp kísérleti elrendezésben a tápoldat K^+ koncentrációjának emelésével érhetünk el) ugyanis kikapcsolja a T-Ca-áramot is, és így a kiváltott akciós potenciálok felszálló szárától függő paraméterek (vezetési és maximális depolarizációs sebesség, amplitúdó) egyetlen tényező, az L-típusú Ca-csatornák aktivitása által lesz meghatározott. Másodsorban jól mérhető tartományba kell hoznunk (é.i.: meg kell növelnünk) az L-Ca-áram intenzitását, ami a.) az intracelluláris cAMP szintet emelő receptor-aktivációval és az extracelluláris Ca^{2+} koncentráció egyidejű megemelésével, vagy b.) Ba^{2+} hozzáadásával érhető el (részletesebben ld. a 6.3./ fejezetben).

4.4./ A modulált-receptor hipotézis

Az első megfigyeléseket, amelyek értelmezése a modulált-receptor hipotézis megszületéséhez vezettek, Weidmann végezte 1955-ben. Kimutatta, hogy az akciós potenciál maximális depolarizációs sebességét csökkentő kokain és kinidin jelenlétében a gyors Na-csatorna elérhetőségét tükröző $h_{inf}(E_m)$ görbe (ld. korábban) a negatívabb membrán potenciálok irányába tolódik el [90]. Kiterjedt kísérletes vizsgálatokkal sikerült kimutatni ezen effektust más antiaritmiás hatóanyagok esetében is [91]. Weidmann ugyanakkor azt tapasztalta, hogy a

[90] Weidmann, S.: Effect of calcium ions and local anesthetics on electrical properties of Purkinje fibres. *J. Physiol.* 129:568 (1955)

[91] 1./ Bigger, J., T., és Mandel, W., J.: Effect of lidocaine on the electrophysiological properties of ventricular muscle and Purkinje fibres. *J. Clin. Invest.* 49:63 (1970); 2./ Bigger, J., T., és Mandel, W., J.: The effect of lidocaine on conduction in canine Purkinje fibers and at the ventricular muscle - Purkinje fiber junction. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 172:239 (1970); 3./ Chen, C., M., Gettes, L., S., és Katzung, B., G.: Effect of lidocaine and quinidine on steady-state characteristics and recovery kinetics of dV/dt_{max} in guinea pig ventricular myocardium. *Circ. Res.* 37:20 (1975); 4./ Davis, L., D., és Temte, J., V.: Electrophysiologic actions of lidocaine on canine ventricular muscle and Purkinje fibers. *Circ. Res.* 24:639 (1969); Singh, B., N., és Vaughan-Williams, E., M.: Effect of altering potassium concentration on the action of lidocaine and diphenylhydantoin on rabbit ventricular muscle. *Circ. Res.* 29:286 (1971); 5./ Strauss, H., C., Bigger, J., T., Thomas, J., Bassett, A., L., és Hofmann, B., F.: Action of diphenylhydantoin on the electrical properties of isolated rabbit and canine atria. *Circ. Res.* 23:463 (1968); Arnsdorf, M., F., és Bigger, J., T.: The effect of procainamide on components of excitability in long mammalian Purkinje fibres. *Circ. Res.* 38:115 (1975); 6./ Rosen, M., R., Gelband, H., és Hoffman, B., F.: Canine electrocardiographic and cardiac electrophysiologic changes induced by procainamide. *Circulation.* 46:528 (1972)



dV/dt_{\max} -gátlás hiperpolarizációval mérsékelhető ill. megszüntethető. Ésszerű magyarázatként kínálkozott, hogy alacsonyabb membránpotenciál szinteknél a hatóanyag-receptor kölcsönhatás gyengül.

A hipotézis kialakulásának következő állomását Johnson és McKinnon eredményei jelzik [92] - nevezetesen, hogy a kinidin dV/dt_{\max} -ra kifejtett hatása az akciós potenciálok alatt fokozatosan fejlődik ki és a *steady-state* blokk arányos az ingerlés frekvenciájával (azaz minél rövidebb két egymást követő akciós potenciál közötti nyugalmi periódus, annál nagyobb a hatóanyag indukálta depolarizációs sebesség csökkenés).

Az említett és más, hasonló vizsgálatok eredményei alapján az a kép alakult ki, hogy az antiaritmiás szerek terápiás koncentrációkban, normál körülmények között marginális dV/dt_{\max} -gátlást fejtenek ki. Abnormális impulzus-mintázat (tachikardia, korai extraszisztole) vagy depolarizált membránpotenciál szint mellett azonban jelentős blokkal kell számolnunk. A háttérben álló mechanizmust Hille ill. Hondeghem és Katzung fejtette meg (modulált receptor hipotézis) [93].

A Hondeghem-Katzung modell feltételezi, hogy 1.) az antiaritmiás szerek egy magán az ion-csatornán vagy annak környezetében elhelyezkedő olyan receptorhoz kapcsolódnak, 2.) melynek hatóanyaggal szembeni affinitását az ion-csatorna állapota határozza meg és 3.) melynek hatóanyaggal történő telítődése az ion-csatorna áteresztőképességének csökkenését - és/vagy feszültség-szenzitivitásának negatívabb membránpotenciálok irányába történő eltolódását vonja maga után [94].

Az *aktív állapotban* levő csatornákkal szemben magas affinitást mutató hatóanyag az akciós potenciál depolarizációs fázisa alatt kötődik meg. A platófázis, majd az azt követő repolarizációs és nyugalmi szak előrehaladtával viszont - lévén az inaktív és nyugalmi csatornákkal szembeni affinitás jóval gyengébb - a kötődési folyamat leáll és az interakcióban részt nem vevő csatornahányad változatlan

[92] Johnson, E., és McKinnon, M., G.: Differential effect of quinidine and pyridamine on the myocardial action potential at various rates of stimulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 120:460 (1957)

[93] 1./ Hille, B.: Local anesthetics: Hydrophilic and hydrophobic pathways for the drug-receptor reaction. *J. Gen. Physiol.* 69: 497 (1977); 2./ Hondeghem, L., M., és Katzung, B., G.: Time- and voltage-dependent interactions of antiarrhythmic drugs with cardiac sodium channels. *Biochim. Biophys. Acta* 472:373 (1977); 3./ Hondeghem, L., M., és Katzung, B., G.: The modulated receptor mechanism of action of sodium and calcium channel-blocking drugs. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 24:387 (1984)

[94] Hondeghem, L., M., és Katzung, B., G.: Antiarrhythmic agents: The modulated receptor mechanism of action of sodium and calcium channel-blocking drugs. *Ann. Rev. Toxicol.* 24:387 (1984)

kinetikát követve megy át inaktív ill. nyugalmi állapotba. A hatóanyaggal "telítődött" csatornák viszont a valóságosnál depolarizáltabb membránpotenciál szintet érzékelnek (ld. 3. pontot) és így, a csatorna-ciklus befejeződése után, tetemes hányaduk, relatíve hosszú ideig, továbbra is elérhetetlen marad a következő aktiváció számára. Folyamatos ingerlés mellett, a csatorna-hatóanyag komplexek átlagos mennyisége végülis telítési görbét követve növekedni fog. A végső csatornagátlást eszerint az *aktív csatorna állapot* iránti affinitás, a stimuláció átlagos frekvenciája és a membránpotenciál együttesen határozzák meg.

Inaktív állapotban levő csatornákhöz szelektíven kapcsolódó ágenssel a folyamat hasonlóan megy végbe - azzal a különbséggel, hogy most a gátlás az akciós potenciál plató fázisa alatt fejlődik ki. A következő akciós potenciál maximális depolarizációs sebessége ennek megfelelően viszonylag nagyobb mértékben deprimálódhat és a kialakuló steady-state gátlás mértékét a szer receptor iránti affinitásán és a membránpotenciálon kívül az akciós potenciál időtartama is befolyásolni fogja.

Amennyiben *nyugalmi állapotban* történik magas affinitású kötődés, a blokk mértéke inkább csökken a stimulációs frekvencia növelésével. A tisztán nyugalmi blokkot produkáló hatóanyagok gyakorlati terápiás jelentőséggel nem bírnak - az ilyen tulajdonságú vegyületek inkább a kardiotoxikus vegyületek közé sorolhatók.

A modulált-receptor hipotézis alapján magyarázhatóvá válik azon körülmény, hogy bizonyos antiaritmiás szerek meglehetősen szövetszelektívek - míg mások nem. A kinidin például egyaránt erőteljesen csökkenti a pitvari, a kamrai és a Purkinje-rost akciós potenciálok maximális depolarizációs sebességét. Tekintve, hogy a kinidin az aktiválódó Na-csatornákhöz kapcsolódik és - tekintve, hogy a depolarizáció (ill. aktiváció) az említett szívszövetekben nagyjából azonos idő alatt megy végbe - ez nem is meglepő. Ezzel szemben a lidokain alig hat pitvari miokardiumon. Ennek oka, hogy a lidokain az inaktiváció során kötődik és a kamrainál közel egy nagyságrenddel rövidebb plató fázissal rendelkező pitvari akciós potenciálok jóval kevesebb hatóanyagmolekula kötődését teszik lehetővé [95].

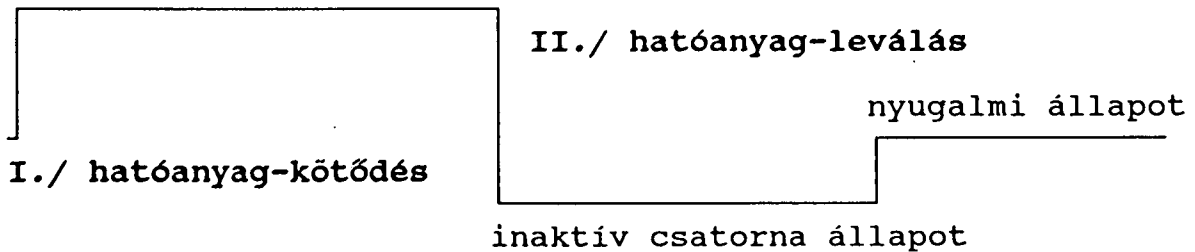
[95] 1./ Bean, B., P., Cohen, C., J., és Tsien, R.,: Lidocain block of cardiac sodium channels. *J. Gen. Physiol.* 81:613 (1983); 2./ Langenfeld, H., Weirick, J., Köhler, C., és Koschick, K.,: Comparative analysis of the action of class I antiarrhythmic drugs (lidocain, quinidine and prajamline) in rabbit atrial and ventricular myocardium. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 15:338 (1990); 3./ Hondeghem, L., M., és Matsubava, I.,: Quinidine block sodium channels during opening and slow inactivation in guinea pig papillary muscle. *Br. J. Pharmacol.* 93:311 (1988)

A modulált-receptor hipotézis érvényességét a lassú Ca-csatorna blokkoló szerek esetében is sikerült igazolni. Az eredmények alapján úgy tűnik, hogy a verapamil az *aktív*, a diltiazem az *inaktív*, a nifedipin pedig a *nyugalmi* állapotban levő Ca-csatornához kapcsolódik magas affinitással [96].

A frekvencia-függő szívhatások lényeges meghatározói az adott vegyület fizikokémiai sajátosságai is. Curtney, Na-csatorna és béta-adrenoreceptor blokkolók esetében azt tapasztalta, hogy míg a gátlás kialakulásának sebessége a lipidoldékonysággal korrelál, addig a blokkból történő helyreállítás időkonstansát elsősorban a molekulásúly determinálja. [97]. Curtney megfigyeléseit alátámasztották Campbell kísérletes adatai is, aki kimutatta, hogy a Na-csatorna blokk jóval gyorsabban alakul ki kis molekulásúlyú hatóanyagokat lipidoldékony alkalmazva - és a gátlás kialakulásának kezdeti sebessége a hatóanyag-koncentráció emelésével fokozható [98]. Moyer és Hondeghem viszont, egymástól alig különböző apridin-származékok Na-csatorna gátló aktivitását tanulmányozva rámutatott arra, hogy a kémiai szerkezet kicsiny eltérései drasztikusan módosíthatják a receptorral szembeni affinitást [99].

A hatóanyag-receptor interakció szempontjából valamely csatorna-ciklus két alapvető fázisra bontható:

aktív csatorna állapot



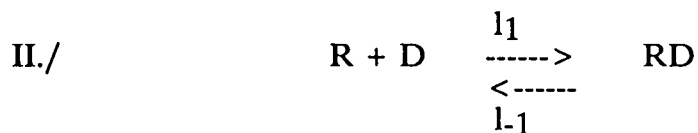
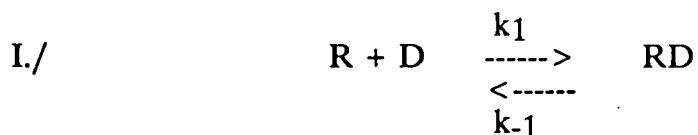
[96] 1./ Molyvdas, P., A., és Sperelakis, N.,: Comparison of the effects of several calcium antagonistic drugs (slow channel blocker) on the electrical and mechanical activities of guinea pig papillary muscle. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 5:162 (1983); 2./ Carmeliet, E.,: Selectivity of antiarrhythmic drugs and ionic channels: A historical overview. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 427:1 (1984)

[97] 1./ Curtney, K., R.,: Interval dependent effects of small antiarrhythmic drugs on excitability of guinea pig myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 12:1273 (1980); 2./ Curtney, K., R.,: Quantitative structure/activity relations based on use-dependent block and repriming kinetics in myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 19:319 (1987)

[98] Campbell, T., J.,: Resting and rate-dependent depression of maximum rate of depolarization (V_{max}) in guinea pig ventricular action potentials by mexiletin, disopiramide and encainide. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 5:291 (1983)

[99] Moyer, J., és Hondeghem, L., M.,: Characterization of activation and inactivation blokk in a series of apridine derivatives using voltage clamp technique. *Fed. Proc.* 42:634 (1983)

Az egyes fázisokban (messzemenően leegyszerűsítve; *guarded-receptor hipotézis*, [100]) az alábbi reakciók mennek végbe:



ahol: R: a receptor,
D: a hatóanyag,
RD: a hatóanyag-receptor komplex,

és az össz receptor koncentráció állandó:
 $[\text{R}] + [\text{RD}] = [\text{R}]_T$

Tekintsük az I./ fázist:

A hatóanyag-receptor komplex mennyiségének időbeli változására felírható, hogy:

$$\frac{d[\text{RD}]}{dt} = k_1 * [\text{R}] * [\text{D}] - k_{-1} [\text{RD}]$$

ill.:

$$\frac{d[\text{RD}]}{dt} = k_1 * [\text{D}] * ([\text{R}]_T - [\text{RD}]) - k_{-1} * [\text{RD}]$$

A megfelelő átalakítások után adódik, hogy:

$$\frac{d[\text{RD}]}{dt} = -(k_1 * [\text{D}] + k_{-1}) * ([\text{RD}]) - \frac{k_1 * [\text{D}] * [\text{R}]_T}{k_1 * [\text{D}] + k_{-1}}$$

ill.:

[100] Starmer, F., C., és Grant, A., O.: Phasic ion channel blockade: A kinetic model and parameter estimation procedure. *Mol. Pharmacol.* 28:348 (1985)

$$\frac{d[RD]}{dt} = -a_I(k_1, k_{-1}, [D]) * ([RD] - \frac{[D] * [R]_T}{[D] + K})$$

ahol $a_I(k_1, k_{-1}, [D])$ a reakció sebességi állandója.

Egyensúlyi állapotban (*steady-state*) $d[RD]/dt = 0$, tehát:

$$[RD] = \frac{[D] * [R]_T}{[D] + K} = [RD]_{ss, I}(K, [D])$$

ahol: K : a hatóanyag-receptor komplex disszociációs állandója.

Ha az I./ fázis időtartama t_I , és az n-edik fázisba lépés előtt már bizonyos mennyiségű hatóanyag megkötődött az ioncsatornán, akkor felírható, hogy:

$$\int_{[RD]_{I, n-1}}^{[RD]_{I, n}} \frac{d[RD]}{[RD] - [RD]_{ss, I}(K, [D])} = \int_0^{t_I} -a(k_1, k_{-1}, [D]) dt$$

amiből az alábbi összefüggés következik:

$$[RD]_{I, n} = [RD]_{I, n-1} * e^{-a(k_1, k_{-1}, [D]) * t_I} + [RD]_{ss, I}(K, [D])$$

Hasonló módon levezethetjük, hogy az n-edik II./ fázis során a csatorna-hatóanyag komplex mennyisége az

$$[RD]_{II, n} = [RD]_{II, n-1} * e^{-a(l_1, l_{-1}, [D]) * t_{II}} + [RD]_{ss, II}(K, [D])$$

összefüggés szerint alakul.

Tekintve, hogy valamely II./ fázis belépő RD mennyiségét mindig a megelőző I./ fázis szolgáltatja és a II./ fázis végén kialakuló [RD] a rákövetkező I./ fázis induló értéke, a két utóbbi egyenlet összevonásával - az n-edik ciklusra vonatkozóan kapjuk, hogy:

$$[RD]_n = [RD]_{n-1} * e^{-(a_k+a_l)} + [RD]_{ss,I} * (1-e^{-a_k}) * e^{-a_l} + [RD]_{ss,II} * (1-e^{-a_l})$$

ahol:

$$a_k = a(k_1, k_{-1}, [D]) * t_I,$$

$$a_l = a(l_1, l_{-1}, [D]) * t_{II},$$

$$[RD]_{ss,I} = [RD]_{ss,I}(K, [D])$$

$$[RD]_{ss,II} = [RD]_{ss,II}(L, [D])$$

Adott (i) számú akciós potenciából álló sorozatra pedig - azzal a megkötéssel, hogy $[RD]_0 = 0$ és $i = 1, 2, \dots$ - felírhatjuk, hogy:

$$[RD]_i = ([RD]_{ss,I} * (1-e^{-a_k}) * e^{-a_l} + [RD]_{ss,II} * (1-e^{-a_l})) * \sum_{j=1}^i e^{-(j-1) * (a_k + a_l)}$$

Tekintve, hogy:

$$\sum_{j=1}^i e^{-(j-1) * (a_k + a_l)} = \frac{1 - e^{-i * (a_k + a_l)}}{1 - e^{-(a_k + a_l)}}$$

Az i-edik akciós potenciál lezajlása után a hatóanyag-receptor komplex koncentrációja:

$$[RD]_i = ([RD]_{ss,I} * (1-e^{-a_k}) * e^{-a_l} + [RD]_{ss,II} * (1-e^{-a_l})) * \frac{1 - e^{-i * (a_k + a_l)}}{1 - e^{-(a_k + a_l)}}$$

Ha pedig folyamatos az akciós potenciál aktivitás (i praktikusán végtelen):

$$[RD]_{inf} = \frac{[RD]_{ss,I} * (1-e^{-a_k}) * e^{-a_l} + [RD]_{ss,II} * (1-e^{-a_l})}{1 - e^{-(a_k + a_l)}}$$

Amikor az I./ fázis a receptor-hatóanyag komplex képződésének ($k_{-1} = 0$), a II./ fázis viszont a disszociációnak ($l_1 = 0$) kedvez:

$$a_k = a(k_1, 0, [D]) * t_I = k_1 * [D] * t_I$$

$$a_1 = a(0, l_{-1}, [D]) * t_{II} = l_{-1} * t_{II}$$

$$[RD]_{ss,I} = \frac{[R]_T * [D]}{\frac{k_{-1}}{k_1} + [D]} = [R]_T$$

$$[RD]_{ss,II} = \frac{[R]_T * [D]}{\frac{l_{-1}}{l_1} + [D]} = 0$$

és ezért:

$$[RD]_i = [R]_T * (1 - e^{-k_1 * [D] * t_I - l_{-1} * t_{II}}) * \frac{1 - e^{-i * (k_1 * [D] * t_I + l_{-1} * t_{II})}}{1 - e^{-(k_1 * [D] * t_I + l_{-1} * t_{II})}}$$

továbbá:

$$[RD]_{inf} = \frac{[R]_T * (1 - e^{-k_1 * [D] * t_I - l_{-1} * t_{II}}) * e^{-l_{-1} * t_{II}}}{1 - e^{-(k_1 * [D] * t_I + l_{-1} * t_{II})}}$$

Ha feltételezzük, hogy az akciós potenciál maximális depolarizációs sebesség (dV/dt_{max}) csökkenése a blokk kialakulása alatt arányos $[RD]_i$ -vel, a $-(a_k + a_l)$ kinetikai konstans egyszerű módon meghatározható:

$$\frac{dV/dt_{max,0} - dV/dt_{max,2i}}{dV/dt_{max,0} - dV/dt_{max,i}} = \frac{1 - e^{-2 * i * (a_k + a_l)}}{1 - e^{-i * (a_k + a_l)}} = 1 + e^{-i * (a_k + a_l)}$$

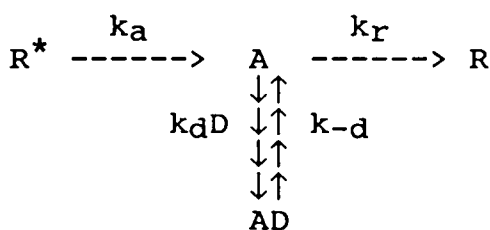
vagyis,

$$-\frac{1}{i} * \ln\left(\frac{dV/dt_{max,0} - dV/dt_{max,2i}}{dV/dt_{max,0} - dV/dt_{max,i}} - 1\right) = k_1 * [D] * t_I + l_{-1} * t_{II}$$

Amennyiben viszont a $dV/dt_{\max}([RD])$ nem-lineáris, a konvencionális mikroelektród technikával végzett kísérletekben csak tájékoztató jellegű, kvalitatív adatokat nyerhetünk.

Nos, ha eddig eljutottunk (azaz sikerült megkonstruálnunk a rendelkezésünkre álló irodalomban ilyen részletességgel sehol nem tárgyalt levezetéseket), már csak egyetlen kérdés megválaszolása maradt hátra: mennyire relevánsak, - mennyire a ténylegesen lezajló csatorna-hatóanyag interakciót jellemzik a k_1 és l_1 sebességi konstansok. (A válasz, amit kapni fogunk igen lehangoló lesz!)

A frekvencia-függő blokk kialakulása szempontjából az egész akciós potenciál ciklusból egyetlen momentum lényeges, nevezetesen, hogy lezajlása során legyen olyan tranzien csatorna-állapot amely preferenciális affinitást mutat a kérdéses hatóanyaggal szemben. A legegyszerűbb formában tehát:



ahol: R^* : a "nyugalmi" állapotban levő csatorna-hányad az akciós potenciál megindulásakor;

A: a hatóanyaggal kapcsolódni képes "aktív" csatorna állapot;

R: az újabb ciklusba belépő "nyugalmi" állapotú csatorna-hányad;

D: a hatóanyag és

k_a, k_r, k_d és $k-d$: a megfelelő sebességi állandók.

Az R^* , A, AD és R csatorna-hányadok időbeli alakulását - a modellnek megfelelően az alábbi differenciál egyenletek írják le:

$$\text{I./} \quad \frac{dR^*(t)}{dt} = -k_a R^*(t)$$

$$\text{II./} \quad \frac{dA(t)}{dt} = k_a R^*(t) + k-d AD(t) - (k_d D + k_r) A(t)$$

$$\text{III./} \quad \frac{dAD(t)}{dt} = k_d * D * A(t) - k_{-d} * AD(t)$$

$$\text{IV./} \quad \frac{dR(t)}{dt} = k_r * A(t)$$

Az I./ egyenlet megoldásaként (Laplace- ill. inverz Laplace-transzformációt alkalmazva; $\mathcal{L}\{\}$ ill. $\mathcal{L}^{-1}\{\}$) kapjuk, hogy:

$$\mathcal{L}\left\{\frac{dR^*(t)}{dt}\right\} = -k_a * \mathcal{L}\{R^*(t)\}$$

innen a következő lépéseken keresztül

$$s * R^*(s) - R^*(+0) = -k_a * R^*(s)$$

$$R^*(s) * (s + k_a) = R^*(+0)$$

adódik, hogy

$$R^*(s) = R^*(+0) * \frac{1}{s + k_a}$$

Elvégezve az inverz Laplace-transzformációt

$$\mathcal{L}^{-1}\{R^*(s)\} = R^*(+0) * \mathcal{L}^{-1}\left\{\frac{1}{s + k_a}\right\}$$

megállapíthatjuk, hogy az akciós potenciál ciklusba belépő csatorna-hányad mennyisége a ciklus kezdetétől számított idő (t) függvényében az alábbi görbe szerint fog alakulni:

$$R^*(t) = R^*(0) * e^{-k_a * t}$$

Az II./ és III./ egyenletek Laplace transzformáltjait véve felírhatjuk, hogy:

$$\text{II./} \quad s * a(s) = \frac{R^*(0)}{s + k_a} + k_{-d} * ad(s) - (k_d * D + k_r) * a(s)$$

$$\text{III./} \quad s * \text{ad}(s) = k_d * D * a(s) - k_{-d} * \text{ad}(s)$$

Az utóbbi két egyenletet egyenletrendszerként $\text{ad}(s)$ -re megoldva, a következő összefüggéshez jutunk:

$$\text{ad}(s) = R^*(0) * k_a * k_d * \frac{1}{s + k_a} * \frac{1}{s^2 + s * K_1(D) + K_2(D)}$$

ahol:

$$K_1(D) = k_d * D - k_{-d} + k_r$$

és

$$K_2(D) = k_d * (k_{-d} - 1) * D + k_{-d} * k_r$$

Az egyszerűség kedvéért tekintsük csupán azon esetet, amikor az

$$s^2 + s * K_1(D) + K_2(D)$$

másodfokú egyenletnek két különböző valós gyöke van (jelölje ezeket s_1 és s_2) - azaz felírható hogy:

$$s^2 + s * K_1(D) + K_2(D) = (s - s_1) * (s - s_2)$$

Az

$$\frac{1}{(s - s_1) * (s - s_2)}$$

hányadost parciális törtekre bontva - a megfelelő átalakítások után a vonatkozó Laplace-transzformált az alábbi alakot ölti:

$$\text{ad}(s) = \frac{R^*(0) * D * k_a * k_d}{s_1 - s_2} * \left(\frac{1}{s - s_1} * \frac{1}{s + k_a} - \frac{1}{s - s_2} * \frac{1}{s + k_a} \right)$$

Ismét parciális törtekre bontás után (kijelölve az inverz Laplace transzforációt) felírhatjuk a következő egyenletet;

$$\begin{aligned} \mathcal{E}^{-1}\{\text{ad}(s)\} = & \frac{R^*(0) * D * k_a * k_d}{s_1 - s_2} * \left[\frac{1}{s_1 + k_a} * \mathcal{E}^{-1}\left\{\frac{1}{s - s_1}\right\} + \frac{1}{s_2 + k_a} * \right. \\ & \left. * \mathcal{E}^{-1}\left\{\frac{1}{s - s_2}\right\} - \left(\frac{1}{s_1 + k_a} * \frac{1}{s_2 + k_a} \right) * \mathcal{E}^{-1}\left\{\frac{1}{s + k_a}\right\} \right] \end{aligned}$$

Ahonnán a hatóanyaggal kapcsolódott (blokkolt) csatorna-hányad időbeli alakulása:

$$AD(t) = \frac{R^*(0) * D * k_a * k_d}{s_1 - s_2} * \left[\frac{1}{s_1 + k_a} * e^{s_1 * t} + \frac{1}{s_2 + k_a} * e^{s_2 * t} - \left(\frac{1}{s_1 + k_a} + \frac{1}{s_2 + k_a} \right) * e^{-k_a * t} \right]$$

vagy röviden:

$$AD(t) = R^*(0) * f(D, t)$$

Tulajdonképpen készen vagyunk, hiszen a ciklus kezdetétől számított t időpontban éppen $AD(t)$ az a csatornahányad, amely semmiféle módon (é.i.: pl. a stimulus intenzitás növelésével) nem hozható működésbe. Ennek megfelelően, a frekvencia-függő dV/dt_{max} gátlás kialakulásának konvencionális mikroelektród technikával történő vizsgálatakor, a nyugalmi (stimuláció mentes) szak után kiváltott egymást követő akciós potenciálok alatt fellépő *frakcionális* gátlás (b_i ; ahol i az akciós potenciál száma) a következő sorozatot követi:

$$b_0 = 0$$

$$b_1 = (R^*(0) - b_0) * f(D, t) = R^*(0) * f(D, t) * (1 - f(D, t))^0$$

$$b_2 = (R^*(0) - b_0 - b_1) * f(D, t) = R^*(0) * f(D, t) * (1 - f(D, t))^1$$

$$b_3 = (R^*(0) - b_0 - b_1 - b_2) * f(D, t) = R^*(0) * f(D, t) * (1 - f(D, t))^2$$

...

$$b_i = (R^*(0) - b_0 - b_1 - \dots - b_{i-2} - b_{i-1}) * f(D, t) = R^*(0) * f(D, t) * (1 - f(D, t))^{i-1}$$

Az i -edik akciós potenciál lezajlása után fennálló teljes frekvencia-függő maximális depolarizációs sebesség gátlás pedig:

$$B_i = R^*(0) * f(D, t) * \sum_{i=1}^{i-1} (1 - f(D, t))^i$$

Amennyiben $0 < (1 - f(D,t)) < 1$, akkor frakcionális blokkok részlet összegéből képzett sorozat konvergens és:

$$B_i = R^*(0) * f(D,t) \frac{1 - (1 - f(D,t))^i}{1 - (1 - f(D,t))} = \\ = R^*(0) * (1 - (1 - f(D,t))^i)$$

Az utóbbi összefüggést felhasználva az i -edik és a $2i$ -edik akciós potenciál után mérhető dV/dt_{\max} -ok hányadosára nézve pedig felírható hogy:

$$\frac{B_{2i}}{B_i} = \frac{1 - (1 - f(D,t))^{2i}}{1 - (1 - f(D,t))^i} = 1 + (1 - f(D,t))^i$$

Ahonnán:

$$f(D,t) = 1 - \left(\frac{B_{2i}}{B_i} - 1 \right)^{\frac{1}{i}}$$

Az $f(D,t)$ függvény aktuális paraméterei (é.i.: a vonatkozó reakció mechanizmus elemi lépéseinek kinetikai konstansai) a rendelkezésünkre álló kísérleti feltételek között nem határozhatók meg egyértelműen. (Feltéve persze, hogy nem próbáljuk meg vakon a valóságra erőltetni a *guarded - receptor hipotézis* modelljét. Ott ugyanis:

$$f(D,t) = 1 - e^{-(a_k + a_l)} = 1 - e^{-(k_1 * D * t_1 + l_{-1} * t_{11})}$$

).

Szerencsére az antiaritmiás szerek frekvencia-függő dV/dt_{\max} gátlásának tanulmányozása rendszerint komparatív kísérletekben történik (é.i.: adott, ismert tulajdonságú hatóanyaghoz viszonyítunk valamilyen új vegyületet). Ilyen jellegű összevetéshez pedig - különösebb mechanizmus-részletekbe bocsátkozás nélkül - önmagukban a konkrét $f(D,t)$ értékek (nevezzük **blokkolási faktor**-nak vagy **akciós potenciálokkénti relatív blokk**-nak) is elegendők.

4.5./ Az akciós potenciál időtartama

Az időtartam a legösszetettebb módon szabályzott akciós potenciál paraméter. Nagyságát, a már említett i_{Cl} (ld. a 3.1.3. pontot), i_{Ca-T} és i_{Ca-L} áramokon (ld. a 3.3. pontot) továbbá a reverz Na^+ / Ca^{2+} kicserélődés (ld. a 3.1.2. és 3.1.4 pontokat) hiperpolarizáló hatásán kívül számos K^+ csatorna szabályozza (6. ábra).

Az I_{to} (*transiens outward K^+ áram*) a depolarizáció lezajlását követően (gyakorlatilag az akciós potenciál csúcán) igen gyorsan aktiválódik - majd gyorsan meg is szűnik. Valószínűleg nem egységes; az egyik altípust a $[Ca^{2+}]_i$ megemelkedése, míg a másikat erőteljes depolarizáció aktiválja. Az utóbbi működését neurotranszmitterek modulálhatják [101].

Az I_{x1} és I_{x2} , -50 +10 mV-os potenciál tartományban aktiválódó K^+ csatornák (*delayed rectifier*) - más befelémelő egyenirányítást mutató csatornákhöz hasonlóan - kismértékben Na^+ ionokat is átengednek. Az I_{x2} áramot mindezig nem sikerült kimutatni izolált miocitákból (létezését csak szöveti preparátumokon nyert eredmények támasztják alá) [102].

Az I_K áramot feszültség-függő lassú aktivációs kinetikával rendelkező csatornák produkálják (*delayed rectifier*). Az akciós potenciál plató fázisa alatt kapcsolódik be és a repolarizáció előrehaladtával fokozatosan megszűnik. A legfontosabb repolarizáló K^+ áram. SA nóduszban, ahol a nyugalmi potenciál alacsony (-60mV), jobbra az I_K deaktivációja teszi lehetővé a lassú diasztolés depolarizáció megindulását. Finomabb elemzések szerint az I_K áram több komponensre bontható, - feltehetően csak az egyik altípust befolyásolják neurotranszmitterek [103].

[101] Coraboeuf, E., és Carmeliet, E.: Existence of two transient outward currents in sheep cardiac purkinje fibers. Pflügers. Arch. 392:352 (1982)

[102] 1./ DiFrancesco, D., Noma, A., és Trautwein, W.: Kinetics and magnitude of the time dependent potassium current in the rabbit SA node: Effect of external potassium. Pflügers. Arch. 381:271 (1979); 2./ Gintant, G., A., Datyner, N., B., és Cohen, I., S.: Gating of delayed rectification in acutely isolated cardiac Purkinje myocytes. Evidence for a single voltage-gated conductance. Biophys. J. 48:1059 (1985); 3./ Shrier, A., és Clay, J., R.: Repolarization currents in embryonic chick atrial heart cell aggregates. Biophys. J. 50:861 (1986)

[103] 1./ Sanguinetti, M., C., és Jurkiewicz, N., K.: Two components of cardiac delayed rectifier K current: differential sensitivity to block by class III. antiarrhythmic agents. J. Gen. Physiol. 96:195 (1990); 2./ Walsh, K., B., és Kass, R., B.: Regulation of a heart potassium channel by protein kinase A and C. Science 242:67 (1988)

AV nodális, Purkinje-rost továbbá pitvari és kamrai munkaizom sejtek esetében az I_{K1} áram tartja a membránfeszültséget a K^+ ekvilibrium potenciálhoz közeli szinten. A szino-atriális junkció *pacemaker* sejtjeiből hiányzik. Ez teszi lehetővé, hogy a *pacemaker*-aktivitást más, kevésbé intenzív membránáramok kontrollálják [104].

Az $I_{K(Ca)}$ csatornát a $[Ca^{2+}]_i$ megemelkedése aktiválja. Fiziológiai szerepe nem kellően tisztázott (talán azt biztosítja, hogy az intracelluláris Ca^{2+} szintet megemelő állapotokban kisebbé váljon az akciós potenciál alatti ion-grádiens disszipáció), kimutatása meglehetősen nehéz [105].

Kamrai izomsejtekben az intracelluláris Na^+ 10 mM fölé emelkedése speciális $I_{K(Na)}$ áramot aktivál. Az áramot létrehozó csatorna inszenzitív a $[Ca^{2+}]_i$ változásokkal szemben - és befelémenő egyenirányítást mutat. Olyan állapotokban, amikor Na^+/K^+ pumpa nem működik, az $I_{K(Na)}$ repolarizálja a membrán feszültséget, a diasztolés intervallum ezáltal meghosszabbodik, és így több idő áll a Na^+/Ca^{2+} kicserélődés rendelkezésére, hogy egyedül is helyreállíthassa a fiziológiás, alacsony $[Na^+]_i$ [106].

Az $I_{K(ATP)}$ áramot anyagcsere-függő K^+ csatornák mediálják. Az intracelluláris ATP szint megemelkedése gátol, csökkenése pedig aktivál. Az antiaritmiás szerek igen változatos módon befolyásolják működését. Az $I_{K(ATP)}$ áramot eddig nem sikerült kimutatni SA nóduszban [107].

Az $I_{K(ACh)}$ áramot muszkarinerg (M_2) receptorok a G proteinen keresztül aktiválják. Depolarizáció hatására intenzitása csökken (befelémenő egyenirányítás). Feltehetően, mind nyugalmi potenciál szinteknél, mind az akciós potenciál alatt hiperpolarizáló hatású. Különösen SA, AV nodális és pitvari munkaizom sejtekben jelentős [108]. A purinerg (adenozin) receptor stimuláció -

[104] Giles, W., R., és Imaizumi, Y.: Comparison of potassium currents in rabbit atrial and ventricular cells. *J. Physiol. (London)* 405:123 (1988)

[105] 1./ Insenberg, G.: Is potassium conductance of cardiac Purkinje fibres controlled by $[Ca^{2+}]_i$? *Nature (London)* 253: 273 (1975); 2./ Insenberg, G.: Cardiac Purkinje fibres. $[Ca^{2+}]_i$ controls steady state potassium conductance. *Pflügers. Arch.* 371:71 (1977)

[106] Kancyama, M., Kabci, M., Sato, R., Shibasaki, T., Matsuda, H., és Irsawa, H.: Intracellular Na^+ activates a K^+ channel in mammalian cardiac cells. *Nature (London)* 309:354 (1984)

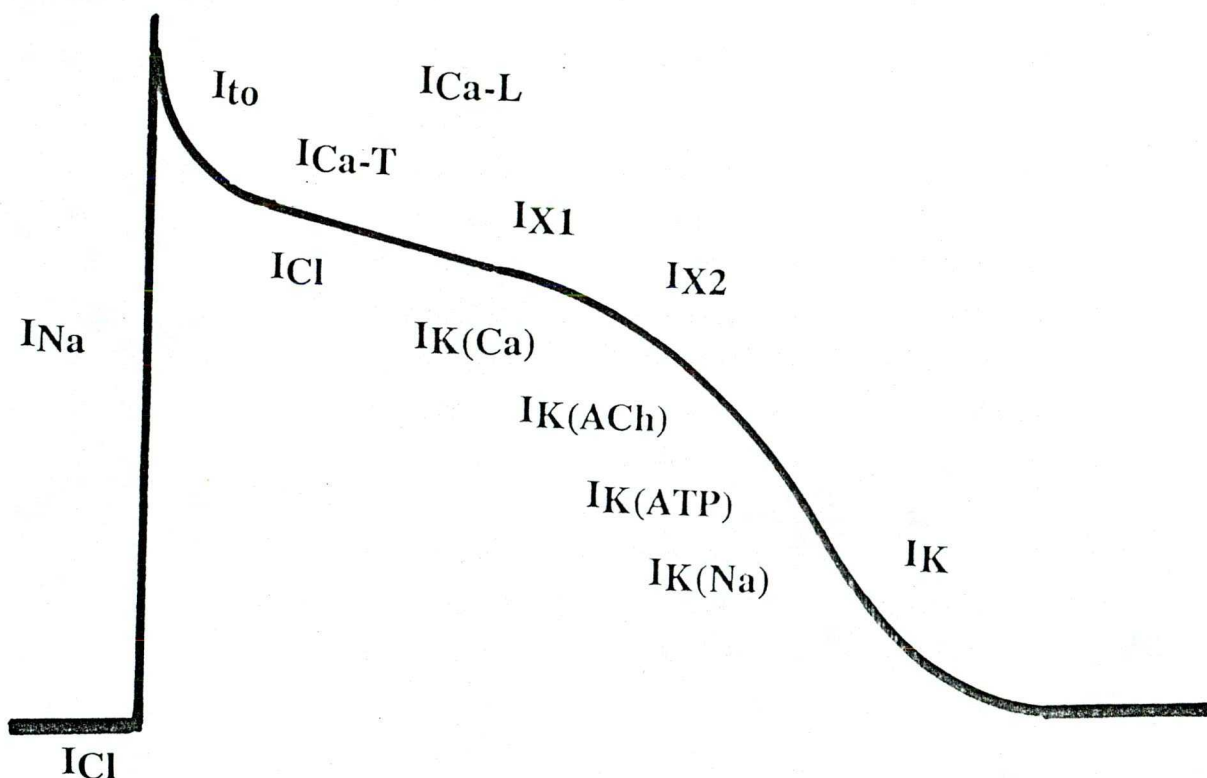
[107] Noma, A.: ATP-regulated K^+ channels in cardiac muscle. *Nature (London)* 305:147 (1983)

[108] Sakmann, B., Noma, A., és Trautwein, W.: Acetylcholine activation of single muscarinic K channels in isolated pacemaker cells of the mammalian heart. *Nature.* 303:250 (1983)

vagy magát az $I_{K(ACh)}$ -t, vagy egy, elektromos tulajdonságait tekintve hozzá igen hasonló, $I_{K(Ado)}$ K^+ áramot kapcsol be.

A nyugalmi potenciál és stimulálás frekvenciája alapvetően befolyásolja az akciós potenciál időtartamát. Általános törvényszerűség, hogy minél alacsonyabb a nyugalmi potenciál értéke és/vagy minél magasabb a hajtófrekvencia, annál rövidebbek az akciós potenciálok. Frekvencia-függő hatásokkal leginkább az I_{to} és kisebb mértékben a *delayed-rectifier* áramok esetében számolhatunk. Valamely, az I_{to} -t gátló antiaritmiás szer, tekintve, hogy a *transiens outward K-áram* megnyilvánulása szívterületről szívterületre más, és más, nagymértékben szövetszelektív lehet.

Az antiaritmiás hatás vizsgálata szempontjából érdemes megjegyezni, hogy a szöveti környezetüktől megfosztott, kimetszett preparátumok akciós potenciáljainak hossza fokozatosan növekszik [109]. Ez azt eredményezi, hogy - különösen hosszú inkubációs idők esetén - a repolarizációt gyorsító hatásokat általában alábecsüljük - és rendszerint nagyobb mértékű akciós potenciál nyújtó aktivitásokat tulajdonítunk a szernek, mint amivel valójában rendelkezik.



6. ábra A miokardiális és Purkinje-rost akciós potenciált generáló ionáramok

[109] Rosen, M., R., és Legato, M., J.: Repolarization: Physiological and structural determinants and pathophysiological changes. Eur. Heart. J. 6-Suppl.D:3 (1985)

5./ SAJÁT FEJLESZTÉSŰ PROGRAMOK

Amikor 1989-ben, a hardver feltételek megteremtődtek, nyilvánvalóvá vált, hogy az antiaritmiás szerek elektrofarmakológiai hatásainak elemzésével kapcsolatos napi kutatási feladataink hatékonyabb ellátása érdekében nem kerülhetjük ki egy akciós potenciál kiértékelő (TEK2230a) és egy nem-lineáris, többváltozós görbeillesztő program (CURVEFIT) megírását. Az első jól működő változatot - jóllehet tisztában voltunk a nyelv korlátaival (abban reménykedve, hogy a kikristályosodott BASIC megoldásoknál PASCAL-ban vagy C-ben legfeljebb gyorsabbat, de logikáját tekintve mást nem írhatunk) - néhány ADVBAS könyvtári rutin esetenkénti alkalmazásával [110], QUICK-BASIC fejlesztői környezetben [111] készítettük el.

Mindkét általunk írt program három modulból épül fel. A főmodult (MAIN MODUL) mindig az adott globális cél (é.i.: eltérő módokon végrehajtott akciós potenciál kiértékelések ill. tetszőleges többváltozós függvény illesztése mérési pontokra) elérését lehetővé tevő eljárások menüvezérelt kijelölését, elindítását ill. bizonyos felhasználó által megadható paraméterek bevitelét biztosító programutasítások továbbá a hibakezelő rutin (ld.: ON ERROR GOTO errorhandler) alkotják. A vonatkozó feladatspecifikus rutinokat ill. eljárásokat az akciós potenciál kiértékelő SERVICE MODUL-jában ill. a görbeillesztő program MATHEMATICAL MODUL-jában gyűjtöttük össze. A TEK2230a-nak és a CURVEFIT-nek egyaránt részét képező EDITOR MODUL az un. általános, mindkét program esetében azonos elvek szerint megvalósított *input/output* rutinokat tartalmazza. Úgy is fogalmazhatunk, hogy az EDITOR MODUL eljárásai ill. rutinjai képezik azt a *felületet*, amelyen keresztül a megfelelő algoritmusok és a felhasználó közötti kapcsolat kialakul. A programok kezelése szempontjából központi helyet elfoglaló volta miatt az ismertetést is az EDITOR MODUL-lal kezdjük.

[110] Hanlin, T.,: Advanced function library for BASIC compiler (AVBAS.LIB v.4.0) (1987)

[111] Microsoft BASIC language reference (1989)

5.1./ Az EDITOR MODUL

5.1.1./ Billentyűzet- és idő-kezelés

5.1.1.1/ Típus:

```

TYPE keytype
  viewkey      AS INTEGER
  kbr          AS INTEGER
  kbc          AS INTEGER
  kba          AS INTEGER
  ins          AS INTEGER
  cap          AS INTEGER
  num          AS INTEGER
  scr          AS INTEGER
  kbs          AS STRING * 41
  cod          AS INTEGER
  viewtime     AS INTEGER
  tbr          AS INTEGER
  tbc          AS INTEGER
  tba          AS INTEGER
  tbs          AS STRING * 8
END TYPE

```

Ahol **viewkey**: logikai változó, ha értéke igaz, az un. *shift billentyű státusz string* megjelenik a képernyőn; *shift billentyű státusz string paraméterek*: **kbr**: képernyő sor; **kbc**: képernyő oszlop; **kba**: szín atribútum; *shift billentyű státusz változók*: **ins**: logikai változó, ha értéke igaz, az INSERT billentyű aktív; **cap**: logikai változó, ha értéke igaz, a CapsLock billentyű aktív; **num**: logikai változó, ha értéke igaz, a NumLock billentyű lenyomva (aktív); **scr**: logikai változó, ha értéke igaz, a ScrollLock billentyű lenyomva; **cod**: a billentyűzet puffer első karakterének ASCII kódja; **viewtime**: logikai változó, ha értéke igaz, az *idő-string* "óra:perc:másodperc" formátumban megjelenik a képernyőn; *idő-string paraméterek*: **tbr**: képernyő sor; **tbc**: képernyő oszlop; **tba**: szín atribútum; **tbs**: idő-string.

5.1.1.2./ Inicializálás:

```
DIM keybar AS keytype
```

```
CALL initkeybar( kbr, kbc, kink, kpap, tbr, tbc, tink, tpap, kbar )
```

A **kink** és **kpap** paraméter a *billentyű státusz string* - a **tink** és **tpap** paraméter pedig az *idő-string* szín atribútumát határozza meg a következő

összefüggés szerint: $szinatributum = 16 * _pap + _ink$ (ahol $_pap$ a háttér, és $_ink$ az előtér színek kódja). Az inicializálás során a `keyvar.kbs` "INSERT:____ CAPS:____ NUM:____ SCROLL:____" karakterlánccal töltődik fel és a rendszer-óra nullára ("00:00:00") áll.

5.1.1.3./ A billentyűzet figyelése:

Szubrutin: `getkeyboard(kbar, s)`

Ahol `kbar` az aktuális keytype típusú változó, míg `s` string a beolvasott karakter(ek) tárolására szolgál. Amennyiben a `kbar.viewkey` logikai változó értéke igaz, a pillanatnyi állapotnak megfelelően beállítódnak a *shift státusz változók* és a *státusz string* a "_" karakterrel jelzett pozíciókon "ON" vagy "OFF" üzenettel kiegészülve megjelenik a képernyőn. Ha a `kbar.viewtime` változó értéke 1 (logikai igaz) az aktuális gépidő szintén kiíródik. Érvényes ASCII karaktert szolgáltató billentyű lenyomására a folyamatos figyelést biztosító ciklus megszakad és a `kbar.cod` változóban megjelenik a billentyűzet pufferben lévő karakterlánc első tagjának ASCII kódja. A karakterkód értelmezésére mindig a hívó rutin szintjén kerül sor.

5.1.2./ Menu kezelés:

5.1.2.1/ Típus:

```

TYPE menutype
  mr  AS INTEGER
  mc  AS INTEGER
  mrn AS INTEGER
  mcn AS INTEGER
  mwr AS INTEGER
  hia AS INTEGER
  mea AS INTEGER
  loa AS INTEGER
  r   AS INTEGER
  rm  AS INTEGER
END TYPE

```

Ahol: **mr** és **mc**: a menüablak bal felső sarkának sor és oszlop pozíciója a képernyőn; **mrn** és **mcn**: a menüablak sorainak és oszlopainak száma; **mwn**: a menüelemeket tároló string tömb utolsó olyan elemének indexe, amelyen

menuablak kezdődhet; **hia**: "intenzív" szín attribútum a menüablak aktuális elemének kiemelésére (tulajdonképpen a menükurzor); **mea**: "közepes intenzitású" szín attribútum a kiválasztott menüelem jelzésére (az aktuális menüpont színe az ENTER billentyű lenyomását követően); **loa**: "alacsony intenzitású" szín attribútum, a menüablak globális színparamétereit határozza meg; **r**: az aktuális menüelem indexe a menüelemeket tároló stringtömbben; **rm**: a stringtömb utolsó elemének indexe.

5.1.2.2./ Inicializálás:

```
DIM mvar           AS menutype
REDIM mstr (0 TO 0) AS STRING

CALL initmenu(    mr, mc, mrn, mcn, lopap, mepap, hipap, loink,
                 meink, hiink, s, mvar, mstr() )
```

Ahol: **mr** és **mc**: a menüablak bal felső sarkának sor és oszlop pozíciója a képernyőn; **mrn** és **mcn** a menüablak sorainak és oszlopainak száma; **lopap**, **mepap**, **hipap** ill. **loink**, **meink**, **hiink**: a megfelelő szín attribútumok háttér (_pap) ill. előtér (_ink) szerinti specifikációja; **s**: a kívánt menüelemeket " ";" vagy ";" karakterrel elválasztva tartalmazó karakterlánc; **mvar**: az inicializált menü változó; és **mstr()**: az **s** elemeinek megfelelően inicializált string tömb.

5.1.2.3./ Menü-pont kiválasztása:

Szubrutin: **menuitem**(kbar, menuvar, mstr())

Ahol: **kbar** keytype típusú, **menuvar** menutype típusú **mstr()** pedig stringtömb típusú inicializált változók. A rutin meghívásakor az aktuális elemet tartalmazó vertikális menüablak megjelenik a képernyőn. Az aktuális elem váltása a megfelelő irányú kurzor billentyűkkel vagy a kívánt menüelem kezdőbetűjének lenyomásával lehetséges. Az aktuális menüelem kiválasztását az ENTER billentyű lenyomása jelzi. Az Esc billentyű lenyomása viszont "érvényteleníti" a menüablakot - arra utal, hogy a programvégrehajtást az illető irányban nem kívánjuk folytatni.

5.1.3./ Program-paraméterek és program-változók bevitele ill. módosítása:

Szubrutin: `editstr(r, c, a, l, s, kbar, sb)`

Ahol: **r** és **c**: az egysoros szöveg-szerkesztő első karakterének sor és oszlop pozíciója a képernyőn; **a**: a kívánt szín atribute; **l**: a szerkesztési hossz karakterekben; **s**: a szerkesztendő karakterlánc; **kbar**: keyvar típusú változó; **sb**: a billentyűzet puffer tárolására szolgáló string.

A szerkesztés befejezését ENTER billentyű lenyomása jelzi. Esc, Ctrl-ENTER, Tab, Up, Dn, PgUp, PgDn, Ctrl-BSPACE, Ctrl-Home, Ctrl-End, Ctrl-Right és Ctrl-Left billentyűk lenyomásakor a szerkesztés ugyancsak abbamarad, de szemben az ENTER lenyomásával, a szerkesztendő változó nem íródik fölül (megőrzi szerkesztés előtti tartalmát). Szöveg típusú változók szerkesztése esetén a rutin használata nyilvánvaló. Numerikus értékek bevitelkor ill. módosításakor az illető változó tartalmát először karakterlánccá kell konvertálni.

5.1.4./ Numerikus tömbök elemeinek bevitele ill. átszerkesztése:

5.1.4.1./ Konstans:

`varname size` :a felhasználó által megadható változónevek maximális mérete byte-okban

5.1.4.1./ Típus:

```
TYPE cetype
  s as STRING * varname size
END TYPE
```

5.1.4.2./ Inicializálás:

```
...
DIM dat(mindatrow TO maxdatrow, mindatcol TO maxdatcol) AS SINGLE
...
```

Ahol **mindatrow** és **maxdatrow** a **dat()** egyszeres pontosságú numerikus tömb első és utolsó sor-, **mindatcol** és **maxdatcol** pedig ugyanezen tömb első és utolsó oszlop-indexe.

...
 DIM datcolstr(0 TO maxdatcol) AS cetype

...

CALL initxstr(s, datcolstr())

Ahol: **s**: a vonatkozó adattömb " ", ";" vagy ";" karakterrel elválasztott fejléc-elemeit tartalmazó string típusú input paraméter; **datcolstr()**: az inicializálandó karakterlánc típusú fejléc-tömb.

Szubrutin: **editdata**(r, c, rn, cn, loa, hia, maxdatcol, maxdatrow, datcolstr(),
 dat(), kbar, bs)

Ahol: **r** és **c**: a szerkesztési felület bal felső sarkának sor és oszlop pozíciója a képernyőn; **rn** és **cn**: a szerkesztési felület adat-sorainak és oszlopainak száma; **loa**: a szerkesztési felület globális szín attribútuma; **hia**: a szerkesztés alatt álló aktuális adatelemét karakter-lánc formájában tartalmazó szerkesztési mező szín attribútuma; **maxdatcol** és **maxdatrow**: az utolsó szerkesztendő adatelem oszlop- és sor-indexe; **kbar**: keytype típusú változó; és **bs**: a billentyűzet-puffer tartalmának tárolására szolgáló string.

A rutin az egyes adatelemek szerkesztéséhez az **editstr**(...) egysoros szövegszerkesztő szubrutint hívja meg. A szerkesztés során az egysoros szövegszerkesztő képernyő pozíciója az aktuális adat-elemnek (szerkesztési mezőnek) megfelelően mozog. Az aktuális adatelem bevitelére ill. átszerkesztésére vonatkozóan az **editstr**(...) rutin leírása során mondottak vonatkoznak. Az aktuális adatelem váltása a kurzor, Tab, PgUp, PgDn, Home, End, Ctrl-Home, Ctrl-End gombok értelemszerű használatával történhet. A Ctrl-ENTER billentyű megnyomásakor új adatsor inzertálódik az aktuális sorpozícióra - a Ctrl-BSPACE viszont törli az állományból az aktuális adat-sort. A Ctrl-kurzor-balra ill. Ctrl-kurzor-jobbra lenyomására az aktuális és a vele balról ill. jobbról szomszédos adat-oszlop tartalma felcserélődik. A szerkesztés befejezése az Esc billentyű lenyomásával történik. A nem használt ill. törölt tömbelemek mindig zérust tartalmaznak. A szerkesztés alatt a maximális és az aktuális sorindex numerikus értéke folyamatosan látható.

5.1.5./ Formula paraméterek bevitele ill. módosítása

5.1.5.1./ Konstans:

varnamsize

:a felhasználó által definiálható változónevek (azonosítók) maximális hossza karakterekben

maxformvar

:a formula paraméterek számának felső határa

5.1.5.2./ Típus:

```

TYPE vartype
  n      AS STRING * varnamsize
  v      AS SINGLE
END TYPE

```

Ahol: **n**: a változó legfeljebb **varnamsize** karaktert tartalmazó azonosítója; **v**: a változó egyszeres pontosságú numerikus értéke, amelyet egyrésztől a felhasználó (ld. **editformvar(...)**), másrésztől a Levensberg-Marquardt eljárás (ld. később) módosíthat.

5.1.5.3./ Inicializálás:

DIM v(0 to maxformvar) AS vartype

:a formula változók azonosítóját és numerikus értékét tartalmazó strukturált tömb

... DIM vs(0 to maxformvar) AS SINGLE

:a változók standard deviációi egyszeres pontosságú számábrázolásban

Szubrutin: **editformvar(r, c, rn, loa, hia, mv, v(), vs(), kbar, sb)**

Ahol: **r** és **c**: a szerkesztési felület bal felső sarkának sor és oszlop pozíciója a képernyőn; **rn**: a szerkesztési felület képernyő sorainak száma; **loa**: a szerkesztési felület globális szín atribútuma; **hia**: az aktuálisan szerkesztett elemet karakter-lánc formában tartalmazó mező szín atribútuma; **mv**: az utolsó változó indexe a **v()** tömbben; **v()**: a változók nevének/azonosítójának és numerikus értékének tárolására szolgáló vartype típusú strukturált tömb; **vs()**: a formula változók standard deviációját tartalmazó egyszeres pontosságú numerikus

tömb - elemei a Levensberg-Marquardt algoritmus szerint végrehajtott görbeillesztő eljárás futása során kapnak értéket; **kbar**: keytype típusú változó; **sb**: pedig a billentyűzet puffer tartalmának elmentésére szolgáló karakterlánc típusú változó.

A rutin a **v()** tömb elemeinek beviteléhez az **editstr(...)** eljárást hívja segítségül (a vonatkozó billentyű-funkciókat ld. ott). A tömbelemek - és ezzel párhuzamosan a szerkesztési felület megfelelő mezőinek váltása a kurzor billentyűkkel lehetséges. A szerkesztés ill. bevitel végét az Esc gomb megnyomása jelzi.

5.1.6./ Könyvtár kezelés:

Szubrutin: **findfile(r, c, rn, hia, loa, filename, kbar, sb, nexerr, errcod)**

Ahol: **r** és **c**: az állomány-lista bal felső sarkának sor és oszlop koordinátája a képernyőn; **rn**: az állomány-lista képernyő sorainak száma; **hia**: az aktuális listaelem szín attribútuma; **loa**: az állomány-lista globális szín attribútuma; **filename**: az állomány nevet és az elérési utat tartalmazó "input" string változó; **kbar**: keytype típusú változó; **sb**: a billentyűzet puffer tartalmának mentésére szolgáló string változó; **nexerr**: egy feltételes hibakód paraméter - ha az illető útvonalon nem található állomány, tartalma átkerül az **errcod** változóba és a rutin-végrehajtás megszakad; **errcod**: az általános hibakód változó - amennyiben a szubrutin futása alatt valamilyen állomány kezelési probléma lép fel tartalma az illető hibára jellemző, pozitív egész értéket kap (egyébként zérus).

A szubrutin az adott útvonalon található állománylistából történő szelekcióhoz a **menuitem(...)** eljárást használja fel. Az aktuális listaelem váltására a korábban mondottak érvényesek. Esc lenyomásakor a rutin végrehajtása megszakad, a **filename** eredeti tartalma megmarad és a **findfile(...)** utáni állomány kezelő "input/output" rutinok nem kerülnek végrehajtásra. A megfelelő lista-elem kiválasztása az ENTER gomb lenyomásával lehetséges. Ha a kiválasztott listaelem könyvtárnév, az automatikusan hozzáíródik az útvonalhoz és az állománylista - mostmár az új útvonalon, újra megállapításra kerül. A Ctrl-BSPACE billentyű megnyomásakor viszont az útvonalból törlődik az utolsó könyvtárnév. Miután az állománynév kiválasztás hibátlanul lezajlott és a vezérlés visszaadódott a hívó rutinnak, a **filename** az elérési utat is magába foglaló új állománynevet fogja tartalmazni.

Felhasználás:

editstr(..., filename, ...)

:a **filename** változó bevitelére ill. módosítására szolgál; (Ebben a stádiumban a **filename** helyettesítő karaktereket ("?" vagy "*") is tartalmazhat. Helyettesítő karakterek esetén a szelekciós lista olyan állománynevekből fog felépülni, amelyek csupán a helyettesítő karakterekkel jelzett pozíciókon különböznek.)

findfile(..., filename, ..., errcod)

load_or_save(..., filename, ..., errcod)

:a vonatkozó adatállomány betöltését vagy elmentését végzi (Konkrétan ilyen nevű szubrutin nem található a programlistákban - feltüntetése csupán arra utal, hogy a megfelelő be/ki-viteli rutinoknak itt kell állniuk. Minden ilyen feladatú be/ki-viteli rutin paraméterlistájában megtalálható az **errcod** változó. Ha az illető be/ki-viteli rutin meghívásakor az **errcod** nem zérus, a rutin programlépései nem kerülnek végrehajtásra.)

5.1.7./ A monitor grafikus módba kapcsolása

Szubrutin: **opengraph**(xmin, xmax, ymin, ymax, dx, dy, errcod)

Ahol: **xmin**, **xmax**, **ymin** és **ymax**: a kívánt grafikus ablak bal felső és jobb alsó felhasználói koordinátái; **dx** és **dy**: a skála-osztások x- és y-irányú méretei felhasználói koordináta egységekben; **errcod**: a már ismertetett hibakód változó.

Amennyiben belépéskor **errcod** értéke nem zérus az **opengraph**(...) és természetesen az utána következő mindazon eljárások, amelyek fejrészükben szintén tartalmazzák ezen változót, nem futnak le. Az **opengraph**(...) végzi az X és Y tengelyek automatikus skálázását is. A tengelyparaméterek (minimum, maximum és osztásköz) numerikus értékei a képernyőn megjelennek. Az **opengraph**(...) után következő rajzoló rutinok a megfelelő speciális funkciójú modulokban találhatóak.



5.1.8./ "Flag" típusú változók beállítása

Típus:

```

TYPE chartype
  c AS STRING * 1
END TYPE

```

Szubrutin: **getcharflag**(r, c, a, nam, cf, kbar, sb)

Ahol: **r** és **c**: a *flag-beállító mező* képernyő pozíciója; **a**: a kívánt szín attribútum; **nam**: a *flag* neve; **cf**: chartype típusú változó, a beállítandó *flag*; **kbar**: keytype típusú változó a billentyűzet kezeléshez; **sb**: karakterlánc típusú változó a billentyűzet puffer tartalmának elmentéséhez.

A rutin meghívásakor a beállítómező "[] flag-név" formátumban megjelenik a képernyő r sorának c oszlopán. ENTER billentyű lenyomásakor - jelezvén, hogy a *flag* aktív, a szögletes zárójelek közé és természetesen a cf paraméterbe is "X" karakter íródik és a vezérlés visszaadódik a hívó program szegmensnek. Az Esc lenyomása ugyancsak megszakítja a rutin futását, de a cf tartalma változatlan marad. Bármely más billentyű használata esetén helyköz karakter kerül a *flag* változóba és a vezérlés továbbra is a rutinban marad. A *flag* aktív állapotba helyezéséhez elegendő tehát az ENTER-t használni - az aktív állapot törléséhez viszont valamelyik klaviatúra gombot, majd az Esc billentyűt kell lenyomnunk.

A chartype típus a *flag*-funkciók támogatásán túl nyilvánvalóan felhasználható olyan esetekben is, ahol elegendő egyetlen byte-nyi információt tárolni (ld. a 5.2.2.1.1./ pontot).

5.2./ A TEK2230A transzmembrán potenciál kiértékelő program

5.2.1./ Indítás:

C:\TEK2230A [C:\TEK.CFG] +ENTER

Ahol:

C:\TEK2230A

:a kiértékelő program neve az elérési úttal együtt

C:\TEK.CFG

:az un. konfigurációs állomány (a szögletes zárójelek arra utalnak, hogy a konfigurációs file megadása nem kötelező)

+ENTER
:az "ENTER" billentyű lenyomását jelzi

5.2.2/ Program-leírás:

A programindítást követően a monitoron megjelenő *vezérlési felület* (7. ábra) a következő elemekből áll: 1.) programnév, 2.) menü, 3.) hiba üzenet, 4.) *billentyű státusz mező* és 5.) *rendszeróra*. A menükurzor a főmenü első bejegyzésén ("SetUp") áll, a hibakód - feltéve, hogy az esetleg megadott konfigurációs állomány alapján végrehajtott beállítások során hiba nem lépett fel - zérus és a *rendszeróra* az indítás óta eltelt időt mutatja "óra:perc:másodperc" formátumban (alap állapot).

5.2.2.1/ Program-konfigurálás menüből

Miután ráálltunk "SetUp" menü-bejegyzésére és megnyomtuk az ENTER billentyűt - a "SetUp"-pal egyvonalban, bejelentkezik az *egysoros szövegszerkesztő* (EDITOR modul, *editstr(...)* eljárás). A szerkesztési mező vagy üres, vagy az utoljára megadott konfigurációs állomány nevét tartalmazza. Ha az új állománynév megadása ill. a régi módosítása után megint "ENTER"-t nyomunk - az *egysoros szövegszerkesztő* alatt, menü formában megjelenik a begépelte útvonalon található összes állomány-név (EDITOR modul, *findfile(...)* rutin; 8. ábra). Természetesen ha konkrét, helyettesítő karaktereket nem tartalmazó konfigurációs állomány nevet adtunk meg - és az illető állomány létezik is, az egysoros szövegszerkesztő alatt feltűnő állomány-lista csupán egyetlen bejegyzést fog tartalmazni. Ha a megadott útvonalon valamilyen oknál fogva állomány nem érhető el, a végrehajtás megszakad és helyreáll a *vezérlési felület* alap állapota azzal a különbséggel, hogy a menükurzor a "SetUp" bejegyzésen marad és a hibakód egy, a hibára jellemző értéket mutat. Amennyiben a kiválasztott konfigurációs állomány rendelkezésre áll megtörténik a kiértékelő program ill. a rendszerbe kapcsolt digitális tároló oszcilloszkóp megfelelő paramétereinek be- ill. átállítása.

```

Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/084.5/1992 by O. Hala
-----
[SetUp]
ResFile
Comment
LoadAcq
SaveAcq
RS-232
Command
MemCopy
AcqSou
SmoMode
DerMode
EvaType
SetPlot
TimeZero
GetAcq
Quit

ERROR: 0 *

-----
INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:00:06

```

7. ábra A TEK2230a program főmenüje

```

Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/084.5/1992 by O. Hala
-----
[SetUp]
ResFile
Comment      TEK2230B.OBJ
LoadAcq      DATMEN1.OBJ
SaveAcq      [TEK.CFG]
RS-232      TEST.000
Command      TEST.001
MemCopy      TEST.002
AcqSou      TEK2230A.EXE
SmoMode      PTN
DerMode      DATMEN.CFG
EvaType      TEST.003
SetPlot
TimeZero
GetAcq
Quit

ERROR: 0 *

-----
INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:02:32

```

8. ábra Program-konfigurálás menüből

5.2.2.1.1/ Típus:

A kiértékelő program vezérlő paramétereit az alábbi struktúrába szerveztük:

```

TYPE tekvartype
  nocnum      AS INTEGER
  cbsize      AS INTEGER
  memsou      AS chartype
  memtar      AS chartype
  acqsou      AS chartype
  acqcha      AS chartype
  ismocf      AS chartype
  ismocn      AS INTEGER
  esmocf      AS chartype
  edercf      AS chartype
  ederch      AS chartype
  edermul     AS SINGLE
  nacqcf      AS chartype
  wavecf      AS chartype
  bsdmul      AS INTEGER
  peakcf      AS chartype
  peaknum     AS INTEGER
  phascf      AS chartype
  ahiscf      AS chartype
  hisgrp      AS INTEGER
  snacqcf     AS chartype
  plotcf      AS chartype
  pltxmi      AS SINGLE
  pltxma      AS SINGLE
  pltdx       AS SINGLE
  pltymi      AS SINGLE
  pltyma      AS SINGLE
  pltdy       AS SINGLE
END TYPE

```

Ahol: Az RS-232 interface-en keresztül történő kommunikáció paramétereit: **nocnum**: az un. üres kommunikációs ciklusok felső határa; **cbsize**: a kommunikációs puffer mérete byte-okban; *A digitális tároló szóp memóriatartalmának mozgatásával kapcsolatos paraméterek*: **memsou**: az un. forrás-memória; **memtar**: az un. cél-memória; *Forrás-memória paraméterek a jelek oszcilloszkópból történő kiolvasásához*: **acqsou**: oszcilloszkóp memória; **acqcha**: oszcilloszkóp csatorna; *A jel-simítást vezérlő paraméterek*: **ismocf**: belső, tehát a program által végzett simítás igénylését jelző *flag*; **ismocn**: a belső simítás mértékét meghatározó paraméter; **esmocf**: külső, tehát az oszcilloszkóp által végzendő simítás igénylését jelző *flag*; *A differenciált jel előállításának módját meghatározó paraméterek*: **edercf**: külső (tehát az oszcilloszkóp felől érkező) derivált használatát jelző *flag*; **ederch**: a deriváltat szolgáltató oszcilloszkóp csatorna kódja; **edermul**: a

külső derivált szorzófaktora; *A jelkiértékelést vezérlő paraméterek*: **nacqf**: az un. "null kiértékelést" jelző *flag* - ha aktív, a program a beolvasott jelet nem értékeli ki, de eltárolja (*null-jel*); **wavecf**: jelformaanalízis igénylését jelző *flag*; **bsdml**: szorzófaktor a hasznos jel meghatározásához; **peakcf**: maximumkeresés igénylését jelző *flag*; **peaknum**: a meghatározandó maximumok számát előíró paraméter; **phascf**: a fázis-sík analízis igénylését jelző *flag*; **ahiscf**: hisztogram felvétel igénylését jelző *flag*; **hisgrp**: a hisztogram csoportjainak számát definiáló paraméter; **snacqf**: un. *null-korrekción* igénylését jelző *flag* - ha aktív, a *null-jel* (mielőtt bármiféle kiértékelés megkezdődne) kivonódik az aktuális jelből; *A rajzolást meghatározó paraméterek*: **plotcf**: a rajzolás igénylését jelző *flag*; **pltxmi**: x-minimum; **pltxma**: x-maximum; **pltdx**: az x-irányú skálaosztás értéke; **pltymi**: y-minimum; **pltyma**: y-maximum; **pltdy**: az y-irányú skálaosztás.

5.2.2.1.2./ A kiértékelő program rendszerváltozói az inicializálás sorrendjében

```

DIM kbar          AS keytype
CALL initkeybar( ..., kbar)
DIM mvar          AS menutype
REDIM mstr(0 to 0) AS STRING
CALL initmenü(..., "SetUp ResFile Comment LoadAcq SaveAcq RS-232
Command MemCopy AcqSou SmoMode DerMode EvaType SetPlot
TimeZero GetAcq Quit", mvar, mstr())

DIM config        AS STRING
:a konfigurációs állomány neve az elérési úttal együtt (konfigurációs
állomány)

DIM resfil        AS STRING
:a kiértékelési eredményeket tartalmazó állomány neve az elérési úttal
együtt (eredmény-file)

DIM resfilf       AS INTEGER
:a resfil állomány un. file-handler-e (A BASIC programozási nyelvben a
megnyitásakor minden állományhoz hozzá kell rendelni egy egész
típusú változót (file-handler). Az illető állományba történő írás, az
abból történő olvasás és az állomány lezárása ezen file-handler
segítségével történhet.)

DIM acqfil        AS STRING
:az oszcilloszkópból beolvasott primér jel-adatok lemezre történő
mentéséhez felhasználandó állománynév az elérési úttal együtt
(akvizíciós állomány)

DIM comfil        AS STRING
:az RS232 "interface" működését meghatározó paraméterek

```

DIM comfilf AS INTEGER
:"file-handler" az RS232 számára (A BASIC nyelv állományként kezeli

a

szabványos külső eszközöket is. Az eszköz működését beállító string változó tulajdonképpen speciális állománynév. Az eszköz műveletek a lemezes állományokra vonatkozó szabályok analógiájára valósíthatók meg.)

DIM tekvar AS tekvartype
:a kiértékelő program vezérlő paramétereit tároló struktúrált változó

DIM coment AS STRING
:ezen karakter-lánc típusú változón keresztül valósítható meg a felhasználói üzenetek, megjegyzések *eredmény-file*-ba írása

DIM cmdstr AS STRING
:a változón keresztül közvetlen utasítások küldhetők a digitális tároló szkópba. Az oszcilloszkóp válasza mindig a képernyőn látható vezérlési felület hibakód bejegyzése után jelenik meg.

DIM userstr AS STRING
:karakter-lánc típusú puffer

A program konfigurálása tulajdonképpen a **config**-tól **cmdstr**-ig terjedő rendszerváltozók vezérlési felületen keresztül vagy állományból történő feltöltését jelenti.

5.2.2.2./ Az *eredmény file* kijelölése illetve átnevezése

A program a működése alatt végrehajtott elemzések eredményeit egyetlen lemezes állományba rögzíti (ld. a **resfil** rendszer változót, 9. ábra). Ezen állomány a konfigurálás során nyílik meg (amennyiben persze a *konfigurációs file* megfelelő területe értelmes állomány nevet tartalmaz) és mindaddig nyitva is marad, amíg a menü "ResFile" pontját aktivizálva újabb állománynevet nem gépelünk be - vagy ki nem lépünk a programból. Ha a megadott *eredmény file* már létezik, a megnyitás során a *file pointer* az állomány végére áll és az újabb eredmények hozzáíródnak a már meglévőkhöz. Ha az eredmény állományt nem definiáljuk, a program az aktuális elérési úton "NONAME" név alatt fogja elmenteni az eredményeket. A kívánt állománynév begépelése és az ENTER lenyomása - azaz az *egysoros szövegszerkesztő*ből ENTER-rel történő kilépés után megjelenik a megfelelő állomány lista és a végső kijelölést az 5.1.6./ alatt leírt módon hajthatjuk végre. Az ujonnan megnyitott *eredmény file*-ba automatikusan beíródik a *programazonosító* (PRG: TEK2230A 1.0/QB/1992).


```

@HDR: Time
@TIM: 08:00:06
@HDR: Acofile
@FIL: 921111.001
@HDR: Comment
@XT: preincubation( after 1 hour )
@DR: N-- W(min)----- W(max)----- W(amp)----- dW(min)----- dW(max)----- T(100)----- T(75)----- T(50)----- T(25)-----
@DTA: 1 0.29622 0.50800 0.28378 0.00309 0.57143 6.11429 0.20000 0.12000 0.09200 0.06000
@DTA: 2 0.29622 0.29931 0.00309 -0.20000 0.57143 0.02000 0.01200 0.02000 0.02000 0.01600
@DTA: 3 0.29622 0.29974 0.00252 -0.20571 0.20571 0.00000 0.00000 0.01600 0.01600 0.01200
@DTA: 4 0.29622 0.50800 0.28378 0.00309 6.00572 0.20000 0.20000 0.12400 0.09200 0.06000
@DTA: 5 0.29622 0.30869 0.00446 -0.57143 0.40572 0.00000 0.00000 0.01600 0.01600 0.01200
@DTA: 6 0.29622 0.30869 0.00446 -0.51428 0.57143 0.01600 0.01600 0.02400 0.02000 0.01200
@DTA: 7 0.29622 0.29997 0.00275 -0.57143 0.20000 0.01200 0.02000 0.02000 0.02000 0.01600

```

```

@ANL: HAVE_DET
@HDR: Time
@TIM: 08:05:36
@HDR: Acofile
@FIL: 921111.002
@HDR: Comment
@XT: preincubation( after 1 hour )
@DR: N-- W(min)----- W(max)----- W(amp)----- dW(min)----- dW(max)----- T(100)----- T(75)----- T(50)----- T(25)-----
@DTA: 1 0.29156 0.50297 0.20142 0.00143 6.51428 0.20000 0.20000 0.12400 0.09200 0.06000
@DTA: 2 0.29156 0.50869 0.20313 -0.50000 6.40572 0.20000 0.20000 0.12000 0.09200 0.06400

```

```

@ANL: HAVE_DET
@HDR: Time
@TIM: 08:10:00
@HDR: Acofile
@FIL: 921111.003
@HDR: Comment
@XT: preincubation( after 1 hour )
@DR: N-- W(min)----- W(max)----- W(amp)----- dW(min)----- dW(max)----- T(100)----- T(75)----- T(50)----- T(25)-----
@DTA: 1 0.29243 0.50863 0.20420 0.00143 6.00572 0.10000 0.10000 0.12400 0.09200 0.06400
@DTA: 2 0.29243 0.50803 0.20260 0.00309 6.17143 0.10000 0.10000 0.12000 0.08000 0.06000
@DTA: 3 0.29243 0.29634 0.00372 -0.42057 0.42057 0.02000 0.02000 0.02000 0.02000 0.02000

```

5.2.2.3./ Magyarázatok, megjegyzések begépelése az *eredmény file*-ba

A program-menü "Comment" pontjának aktivizálása után (ráállítás a megfelelő kurzor billentyűkkel majd az ENTER lenyomása) megjelenő szerkesztési mezőbe gépelt szövegek az ENTER lenyomásakor átíródnak a *coment* rendszer változóba, majd onnan az *eredmény állomány*ba kerülnek. A szövegek programból történő visszamenőleges hatályú módosítása - az *eredmény file* kezelés módja miatt - nem lehetséges.

5.2.2.4./ Primér adat állomány (*akvizíciós file*) kijelölése

A program az oszcilloszkópból vett binárisan kódolt jeleket a szükséges átalakítások után jól olvasható, más programokkal széles körben kompatibilis formába konvertálja (3. ábra) és "NONAME", - vagy a menü "SaveAcq" pontjának aktivizálása után begépelte globális név alatt lemezre menti. Az állománynév kiterjesztését felesleges meghatározni, - ide automatikusan az aktuális globálnév alatt történő mentés sorszáma kerül. A primér adatállomány neve bekerül az *eredmény file*-ba is.

5.2.2.5./ Primér adat állományok tartalmának módosítása és újraelemzése

A menü "LadAcq" pontját aktivizálva (10-13. ábrák) és a szokásos állomány kijelölési procedúrát végigjárva - a korábban elmentett primér adatállományok ismét beolvashatók. Sikeres beolvasást követően a vezérlés először az *editdata(...)* táblázat szerkesztő rutinra adódik át. A táblázat szerkesztő segítségével megtekinthetjük ill. módosíthatjuk a vonatkozó jel-görbe adatokat. Az analízist meghatározó rendszerváltozók aktuális állapota szerinti újraelemzésre csak akkor kerül sor, ha a *táblázatszerkesztőből* történő kilépés után, a táblázat alatt megjelenő szerkesztési területbe új globálnevet gépelünk ill. a régit ENTER-rel megerősítjük. Az utóbbi sem jelenti szükségképpen az eredeti primér adatállomány elvesztését ill. felülírását - hiszen az újramentés előtt az állománynév (kiterjesztésben szereplő) sorszáma eggyel nőni fog. Ha a növelt sorszámú primér állománynév már foglalt (ilyen néven történt már mentés) még mindig lehetőség

```

Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/QB4.5/1992 by D. Hala
]
SetUp
ResFile
Comment
LoadAcq TEST.001
SaveAcq
RS-232 TEST.001
Command
MemCopy
AcqSou
SmoMode
DerMode
EvaType
SetPlot
TimeZero
GetAcq
Quit

ERROR: 24 *

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:04:11

```

10. ábra Lemezes adatállomány kijelölése újraelemzéshez

```

Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/QB4.5/1992 by D. Hala
]
SetUp
ResFile
Comment maximum row: 491 1
LoadAcq
SaveAcq X() Y() dY()
RS-232 TEST.001
Command -63 -86 0
MemCopy -62 -85 0
AcqSou -61 -85.07194 0
SmoMode -60 -85.39326 0
DerMode -59 -85.53523 0
EvaType -58 -85.52328 0
SetPlot -57 -85.4652 0
TimeZero -56 -85.47421 0
GetAcq -55 -85.59074 0
Quit -54 -85.81089 0

ERROR: 24 *

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:05:05

```

11. ábra A primér adatállomány elemeinek megtekintése ill. módosítása

```

Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/084.5/1992 by O. Hala
]
Setup
ResFile
Comment          maximum row: 491          1
LoadAcq
SaveAcq          X()          Y()          dY()
RS-232          TEST.001
Command          -63          -86          0
MemCopy          -62          -85          0
AcqSou          -61          -85.07194      0
SmoMode          -60          -85.39326      0
DerMode          -59          -85.53523      0
EvaType          -58          -85.52328      0
SetPlot          -57          -85.4652       0
TimeZero         -56          -85.47421      0
GetAcq           -55          -85.59074      0
Quit            TEST.001

ERROR: 0 *

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:07:42

```

12. ábra Az újraelemzés elindítása

```

Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/084.5/1992 by O. Hala
]
Setup
ResFile
Comment          maximum row: 491          1
LoadAcq          InternalSmoothing
SaveAcq          X()          Y()          dY()
RS-232          TEST.001          SaveData
Command          GetDerivative      -86          0
MemCopy          EvaluateWave       -85          0
AcqSou          SaveWaveResults     -85.07194    0
SmoMode          -60          -85.39326    0
DerMode          -59          -85.53523    0
EvaType          -58          -85.52328    0
SetPlot          -57          -85.4652     0
TimeZero         -56          -85.47421    0
GetAcq           -55          -85.59074    0
Quit            TEST.001

ERROR: 24 *

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:00:37

```

13. ábra Képernyőtartalom az újraelemzés futása közben

van a végrehajtás felfüggesztésére és új állománynév kijelölésére. Az igényelt elemzések ill. az egyes elemzési lépések futását azonosító-szövegek megjelenése mutatja a képernyőn.

```

Tektronix2230 Data Acousition  Ver.:3.0/084.5/1992  by D. Hala
]
SetUp
ResFile
Comment
LoadAcq
SaveAcq
RS-232  com2:2400,n,8,2,bin
Command
MemCopy  NoCom Limit: 2400
AcqSou   ComBuf Size: 1024
SmoMode
DerMode
EvaType
SetPlot
TimeZero
GetAcq
Quit

ERROR: 0 *

INSERT:OFF  CAPS:OFF  NUM:OFF  SCROLL:OFF  00:02:47

```

14. ábra A kommunikációt vezérlő paraméterek beállítása

5.2.2.6./ Az RS-232 interface beállítása

A menü "RS-232" pontjának aktivizálása után megjelenő szerkesztősorba (ld. `editstr` (...) szubrutin) a BASIC szabályainak megfelelően begépelhetjük a megfelelő paramétereket (pl. "com2:2400,n,8,2,bin" azaz a 2. RS-232 portot kívánjuk megnyitni úgy, hogy a *baud-rate* 2400 bit/s, a szóhossz 8 bit, a *stop-bitek* száma 2 legyen, paritás ellenőrzésre ne kerüljön sor és az átvitel binárisan történjék (azaz az un. vezérlő karakterek átvitele is végbemenjen)). Az *egysoros szövegszerkesztő*ből történő kilépés után azonban a beállításnak még nincs vége. A korrekt működéshez meg kell ugyanis adni az egymást követő *üres kommunikációs ciklusok* megengedett maximális számát ("NoCom Limit"; **tekvar nocnum** rendszerváltozó; ld. 5.2.2.8./ pontot) és a kommunikációs puffer méretét ("ComBuf Size"; **tekvar.cbsize** rendszerváltozó) is. (14. ábra). Amennyiben az RS-

232 *interface* beállítása során hiba nem lépett fel, automatikusan reinicializálódik az *eredmény file* (ld. 5.2.2.2./ pontot), végrehajtnak a kiértékelő program és az oszcilloszkóp kompatibilitását biztosító specifikus utasítások ("rem on": az oszcilloszkóp távvezérelt módba kapcsolása; "lon off": az oszcilloszkóp utasítás-értelmezőjének un. rövid módba állítása; "dat enc:bin": bináris adatátviteli mód kijelölése) és a *tekvar.esmocf* változó tartalmától függően aktív vagy passzív állapotba kerül a TEKTRONIX2230-as tárolószkóp saját jelsimító rutinja. Az RS-223 megnyitásának programbeli megvalósítása a következő:

tek2230a01:

:címké GOSUB... típusú vezérlés átadáshoz

IF comfil <> 0 THEN

CLOSE comfil

comfil = 0

END IF

:ha az RS-232 *interface*-t korábban már megnyitottuk, akkor az lezáródik és a megfelelő *file-handler* zérus értéket kap

IF comfil <> "" THEN

comfil = FREEFILE

OPEN comfil FOR RANDOM AS #comfil LEN=tekvar.cbsize

cmdstr = "rem on;lon off;dat enc:bin"

CALL tek2230io(comfil, tekvar.nocnum, cmdstr, userstr, errcod)

END IF

:ha az RS-232 paramétereket tartalmazó speciális *file-név* nem un. "üres string", a *comfil* rendszer változó rááll a soron következő szabad *file-handler*-re és kiadódnak az oszcilloszkópot beállító alaputasítások

RETURN

:a "tek2230a01" rutin vége.

5.2.2.7./ Az oszcilloszkóp direkt vezérlése

A menü "Command" pontjának aktivizálása után megjelenő szerkesztési mezőbe begépelte utasítások az ENTER lenyomását követően kiküldődnek a kommunikációs vonalra. Az oszcilloszkóp válasza a vezérlési felületen - a hibakód után láthatóvá válik (maximum 55 karakter hosszúságban).

5.2.2.8./ Az "oszcilloszkóp-meghajtó" rutin

A TEKTRONIX-2230 digitális tároló oszcilloszkópot közvetlenül az alábbi szubrutin vezérli:

tek2230io(f, limit, inpstr, outstr, errcod)

Ahol: **f**: az RS-232 *interface*-hez a megnyitás során hozzárendelt *file-handler*; **limit**: az egymást követő un. üres kommunikációs ciklusok számának felső határa. Bevezetését az a törekvés tette szükségessé, hogy az oszcilloszkóp felől érkező üzenetek végét ne a szokásos termináló karakterek jelezzék, hanem az, hogy a vonalon meghatározott idő óta semmi sem érkezett. Vonalhiba esetén előfordulhat ugyanis, hogy épp a termináló karakter kódok sérülnek ill. maradnak el. Az általában ajánlott RS-232 olvasás használatakor ez azt eredményezi, hogy a rendszer lemerevedik ill. "device timeout" hibával leáll, jóllehet az üzenet maga esetleg értelmes. További magyarázatul tekintsük a vonatkozó programrészt:

```

...
tek2230io01:
    :címke GOSUB... típusú vezérlés átadáshoz

    i = 0 :az üres-ciklus számláló nullázása
    j = 0 :az olvasandó válasz hosszát tartalmazó változó nullázása

    DO WHILE i < limit
        :ciklus amíg az üres-ciklusok száma kisebb, mint a limit

        l = LOC( f )
            :az f-hez rendelt pufferben olvasásra váró karakterek
            száma bekerül az l változóba

        IF l THEN
            outstr = outstr + INPUT$( l, f )
            IF i THEN i = 0
            j = j + 1
        ELSE
            i = i + 1
        END IF
        :ha a vonalon érkezett karakter (azaz l nem zérus), akkor azok
        hozzáíródnak az outstr-hez - a válasz hossza ennek megfelelően l-lel nő
        és a ciklus-számláló nullázódik; ha viszont a puffer üres, tehát nem
        érkezett a vonalon keresztül újabb karakter - az üres- ciklus számláló
        tartalma eggyel nő

    LOOP
        : a "DO" ciklus vége
RETURN
    : a "tek2230io01" címkéjű belső szubrutin vége.

```

Az utóbbi programrészlet egyéb változói:

inpstr :az aktuális utasítást tartalmazó un. *input string*
outstr :az oszcilloszkóp által visszaküldött karakterlánc
errcod :a már ismertetett egész típusú rendszer változó, a hibakód

A **inpstr** pontosvesszővel elválasztva egyszerre több oszcilloszkóp utasítást is tartalmazhat (*összetett utasítás*). A **tek2230io(...)** rutin - noha az oszcilloszkóp parancs értelmezője ezt lehetővé tenné, nem egyszerre, hanem elemi utasításokra bontva küldi el az **inpstr**-et. *Összetett utasítás* esetén az **outstr** az adott elemi utasításokra adott oszcilloszkóp válaszokból felépülő *összetett válasz* lesz. A rutin minden egyes elemi utasítás után megvizsgálja, hogy az oszcilloszkóp hibaüzenetet küldött-e vissza vagy sem. Oszcilloszkóp hiba esetén a hátralévő elemi utasítások nem kerülnek ki a kommunikációs vonalra - a végrehajtás azonnal visszadődik a hívó szegmensnek.

5.2.2.9./ Az oszcilloszkóp memóriák tartalmának másolása

A menü "MemCopy" pontjának aktiválása után megadott *forrás-* és *a cél-memória* kódok az ENTER billentyűvel történő megerősítés után bekerülnek a **tekvar.memsou.c** és **tekvar.memtar.c** rendszerváltozóba (15. ábra). A memória másolást végrehajtó programrészlet a következő:

```
...
cmdstr = "reff ref" + tekvar.mesou.c + ";sav ref" + tekvar.memtar.c
CALL tek2230io(comfilf, tekvar.nocnum, cmdstr, userstr, errcod )
...
```

Azaz, a megfelelő memória műveleteket előíró oszcilloszkóp utasítások ";" karakterrel szeparálva előállnak a **cmdstr** rendszerváltozóba és onnan a **tek2230io(...)** rutinon keresztül kikerülnek a kommunikációs vonalra. Ha hiba nem lépett fel "READY;READY" szöveg jelenik meg a *vezérlési felület* hibakódot követő területén. A "MemCopy" funkció megvalósítását az tette szükségessé, hogy a tartalmukat a kikapcsolás után is megőrző oszcilloszkóp memóriák (A...Z) az adatátvitel szempontjából nem jöhetnek számításba. Az oszcilloszkópból csak az un. képernyő memóriák (1, 2, 3 és 4) valamint az *akvizíciós-memória* tartalma olvasható ki RS-232 *interface*-en keresztül. Ha történetesen A...Z memória

tartalmát át akarjuk olvasni, akkor azt először át kell másolni az 1...4 képernyő memóriák valamelyikébe.

```

Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/QB4.5/1992 by D. Hala
]
SetUp
ResFile
Comment
LoadAcq
SaveAcq
RS-232
Command
MemCopy Source: a Destination: 1
AcqSou
SmoMode
DerMode
EvaType
SetPlot
TimeZero
GetAcq
Quit

ERROR: 0 »

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:04:38

```

15. ábra Az oszcilloszkóp-memóriák tartalmának másolása

4.2.2.10./ A memória paraméterek megadása az adatátvitelhez

Az "AcqSou" menüpont aktivizálása után (16. ábra) kijelölhetjük azon oszcilloszkóp memóriát, amelynek tartalmát át akarjuk olvasni a számítógépbe (0, 1, 2, 3 vagy 4) ill. meghatározhatjuk, hogy az illető memória melyik oszcilloszkóp csatornának megfelelő területére vagyunk kíváncsiak (1 vagy 2). Az oszcilloszkóp *akvizíciós-memóriájára* (azon speciális memória terület, amelynek tartalma tároló üzemmódban a képernyőn látható - bele sehonnan, de belőle mind a képernyő mind a tartalmukat tápfeszültség-független módon őrző memóriákba másolhatunk) 0 kóddal hivatkozhatunk.

```

Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/DB4.5/1992 by D. Hala
]
SetUp
ResFile
Comment
LoadAcq
SaveAcq
RS-232
Command
MemCopy
AcqSou Memory: 0 Channel: 1
SmoMode
DerMode
EvaType
SetPlot
TimeZero
GetAcq
Quit

ERROR: 0 » 1

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:05:36

```

16. ábra Az adatátviteli memória kijelölése

5.2.2.11./ A jelsimítás vezérlése

A menü "SmoMode" pontjában írhatjuk elő, hogy kívánjuk-e az aktuális jelet simítani - és ha igen, az milyen mértékű legyen (17. ábra). Ha az "[] Internal" felirat megjelenése után ENTER-t nyomunk, a szögletes zárójelek közé, ill. a vonatkozó **tekvar.ismocf** rendszer változóba "X" kerül és a vezérlés a jelkiértékelés előtt át fog adódni a görbesimítást végző **smoothdata(...)** rutinnak. A simítás mértékét (azaz egymás után hány simítást kívánunk elvégezni) a "Cycle Num:" mezőben adhatjuk meg (ld. a **tekvar.ismocn** rendszerváltozót). Ha bekapcsoljuk az "External" *flag*-et ("[X] External" eset; **tekvar.esmocf** rendszerváltozó) a kommunikációs vonalon keresztül kiadódik az "acq smo:on" utasítás és aktív állapotba kerül a digitális tárolószkóp saját jel-simító rutinja. Az "External" *flag* kikapcsolása "acq smo:off" parancs kiküldését vonja maga után.

```

Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/084.5/1992 by D. Hala
]
Setup
ResFile
Comment
LoadAcq
SaveAcq
RS-232
Command
MemCopy
AcqSou
SmoMode [X] Internal Cycle Num: 1
DerMode [ ] External
EvaType
SetPlot
TimeZero
GetAcq
Quit

ERROR: 52 »

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:07:39

```

17. ábra A jelsimítás módjának meghatározása

```

Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/084.5/1992 by D. Hala
]
Setup
ResFile
Comment
LoadAcq
SaveAcq
RS-232
Command
MemCopy
AcqSou
SmoMode
DerMode [X] External Channel: 1 Mul.: 1
EvaType
SetPlot
TimeZero
GetAcq
Quit

ERROR: 0 »

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:08:39

```

18. ábra A jel deriválását meghatározó paraméterek beállítása

5.2.2.12./ A jelsimító rutin

Szubrutin: smoothdata(num, sdc, ddc, mindatrow, maxdatrow, d(), errcod)

Ahol: **num**: a simítás mértékét meghatározó paraméter (itt adódik át a **tekvar.ismocn** rendszerváltozó); **sdc**: a **d()** adat-táblázat simítandó értékeket tartalmazó oszlopa; **ddc**: a **d()** táblázat olyan oszlopának indexe, amely munkaterületként szolgálhat; **mindatrow** és **maxdatrow**: az **sdc** oszlop első és utolsó simítandó értékének indexe; **d()**: egyszeres pontosságú numerikus értékekből álló sor-oszlop szervezésű táblázat; **errcod**: a hibakód változó.

A rutin teste:

Segéd-változók inicializálása:

```
DIM n AS INTEGER
DIM r AS INTEGER
IF errcod THEN EXIT SUB
```

:ha az **errcod** zérustól különböző értékkel lép a rutinba, a simításra nem kerül sor

Az indexhatárok módosítása az algoritmusnak megfelelően:

```
mindatrow = mindatrow + 2
maxdatrow = maxdatrow - 2
```

A simító eljárás:

```
FOR n = 1 TO num
  :a simítás mértékét meghatározó ciklus
```

```
  FOR r = mindatrow TO maxdatrow
    :a simított értékeket a d(, ddc) munkaterületen előállító ciklus
```

$$d(r, ddc) = \frac{(-3*d(r-2, sdc) + 12*(r-1, sdc) + 17*d(r, sdc) + 12*d(r+1, sdc) - 3*d(r+2, sdc))}{35}$$

:az 5pontos köbös Stavitzky-Golay algoritmus formulája [112]

```
  NEXT r
```

```
NEXT n
```

```
CALL copydatcol(ddc, sdc, mindatrow, maxdatrow, d(), errcod)
  :a munkaterület bemásolása a simítandó értékek oszlopába
```

...

[112] A., Stavitzky és M., J., E., Golay: Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. Anal. Chemistry. 36-VIII:1627 (1964)

5.2.2.13./ A jel deriválása

Deriváltak előállítására a hullám-forma analízis és a fázis-sík ábrázolás esetén szükséges. A derivált értékeket vagy a program állítja elő, vagy az RS-232 *interface*-en keresztül az oszcilloszkópból beolvashatók. Ezen utóbbi esetben persze a kísérletes körülmények között nyert analóg jelet elektronikus differenciátor közbeiktatásával be kell táplálni a megfelelő oszcilloszkóp-csatornába. Azt, hogy melyik lehetőséggel kívánunk élni, a menü "DerMode" pontjában szabhatjuk meg (18. ábra). Ha ugyanis a menüpont aktivizálása után megjelenő "External" *flag*-et kikapcsoljuk (" [] External" eset) belső, tehát program által végrehajtott deriválás történik. A *flag* bekapcsolása után (" [X] External" eset) be kell még gépelnünk azon oszcilloszkóp csatorna azonosítóját (1 vagy 2), amelyre a derivált jelet vezettük ("Channel:") és meg kell adnunk a hitelesítő faktor numerikus értékét ("Mul:").

5.2.2.14./ A deriváló rutin

Szubrutin: **derivatedata**(sdc, ddc, mindatrow, maxdatrow, d(), errcod)

Ahol: **sdc**: a **d()** adat-táblázat deriválandó "görbét" tartalmazó oszlopának indexe; **ddc**: azon táblázat-oszlop indexe, amelybe a derivált értékeket tölteni kívánjuk; **mindatrow** és **maxdatrow**: a megfelelő oszlop első és utolsó deriválandó elemének sor-indexe; **d()**: a primér ill. transzformált görbe-pontok tárolására használt egyszeres pontosságú sor-oszlop szervezésű numerikus tömb; **errcod**: a hibakód változó.

A rutin teste:

```
...
DIM r AS INTEGER
:segéd változó inicializálása
```

```
IF errcod THEN EXIT SUB
:ha az errcod változó valahol a rutin hívása előtt zérustól különböző értéket kapott, a
deriválásra nem kerül sor.
```

Az indexhatárok módosítása az algoritmusnak megfelelően:

```
mindatrow = mindatrow + 1
maxdatrow = maxdatrow - 1
```

FOR r = mindatrow TO maxdatrow

:a deriváló ciklus

d(r, ddc) = d(r, sdc) - d(r-1, sdc)

:a deriváló formula (Tulajdonképpen nem a deriváltat, hanem a bal oldali differenciát állítjuk elő. Tapasztalataink szerint - különösen relatív változások regisztrálásakor (tehát amikor például arra vagyunk kíváncsiak hogy adott kísérletes behatás következtében hány százalékkal csökken vagy nő a jel első deriváltjának maximuma) ez nem okoz problémát.)

NEXT r

:a deriváló ciklus vége

...

```
[ Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/084.5/1992 by D. Hala ]
SetUp
ResFile
Comment
LoadAcq
SaveAcq
RS-232
Command
MemCopy
AcqSou
SmcMode
DerMode
EvaType [ ] Null [X] Wave Noise Var.Mul.: 1
SetPlot [X] Peak Num. ....: 20
TimeZero [X] Phase-Plane
GetAcq
Quit [X] Subtract Null

ERROR: 0 »

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:10:20
```

19. ábra A végrehajtandó akciók potenciál elemzések kijelölése

5.2.2.15./ Az analízisfajták kijelölése

Ha az "EvaType"- "Null" *flag*-et (19. ábra) bekapcsoljuk ("[X] Null" eset) analízisre nem kerül sor - viszont a beolvasott Y-adatok, a primér adat-területről (a fentebb említett $d()$ tömb 1. oszlopa) be fognak másolódni az un. "Null" adat-területbe (a $d()$ tömb -1. oszlopa).

Amennyiben az "EvaType"- "Null" kapcsolót kikapcsoljuk (" [] Null" állapot) láthatóvá válik az un. *analízis-leíró terület*. A "[] Wave" *flag* állításával a hullámforma analízist (akciós potenciál kiértékelést) kapcsolhatjuk ki vagy be. Miután igényeltük ezen elemzést, meg kell adnunk azt is, hogy hányszor kell nagyobbak lennie a hasznos jel amplitúdójának az alap zajnál ("Noise Var.Mul:"). A "Peak" *flag*-et bekapcsolva előírhatjuk, hogy válassza ki a program a minta első "Num:" maximumát (különösen a frekvencia függő dV/dt_{max} blokk kialakulásának ill. megszűnésének vizsgálatakor hasznos ezen funkció). A "[X] Phase-Plan" kapcsoló állapot - a fejlesztés jelenlegi stádiumában csupán fázis-sík formában történő megjelenítést vált ki (feltéve, ha igényeltünk görbe rajzolást is). Ha a "Substract Null" *flag* aktív (azaz "[X] Substract Null"), mielőtt bármiféle analízisre sor kerülne, a *null-adatterület* értékei által képviselt *alapvonal* kivonódik az aktuális jelből. A funkció alkalmazása például a *stimulus artefactum* kiszűrésekor indokolt.

```
[ Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/084.5/1992 by D. Hala ]
Setup
ResFile
Comment
LoadAcq
SaveAcq
RS-232
Command
MemCopy
AcqSou
SmoMode
DerMode
EvaType
SetPlot [ ] Null X(min): -110
TimeZero X(max): 800
GetAcq Y(min): -110
Quit Y(max): 110

ERROR: 0 *

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:11:06
```

20. ábra A grafikus képernyő paramétereinek megadása

5.2.2.16./ A grafikus képernyő beállítása

Ha a "SetPlot" menüpont "Null" *flag*-jét (20. ábra) kikapcsoljuk, a program minden meghívott elemzőeljárás lefutása után ki fogja rajzolni az aktuális XY adatokat. A grafikus képernyő méretét az "x(min)", "x(max)", "y(min)" és "y(max)" paraméterek oszcilloszkóp képernyő pontokban történő megadásával állíthatjuk be.

5.2.2.17./ A rendszeróra nullázása

Ha a menükurzor a "TimeZero" bejegyzésen áll és lenyomjuk az ENTER billentyűt, a *vezérlésfelület* jobb alsó sarkában látható *rendszeróra* kinullázódik.

5.2.2.18./ A jel-beolvasás és -kiértékelés

A menü "GetAcq" pontját aktivizálva a kiértékelő program az RS-232 *interface*-en keresztül beolvassa a jel-adatokat tartalmazó bináris állományt az oszcilloszkópból és a *d()* tömb 0-1 oszlopában (*akvizíciós adatterület*) előállítja ill. a soron következő *akvizíciós állomány-név* alatt lemezre menti a vonatkozó XY adatokat. Ezt követően végrehajtnak a kijelölt elemzések, a kapott eredmények beíródnak az *eredmény file*-ba (ill. printeren kinyomtatódnak, ha a billentyűzet "Scroll Lock" gombja aktív) és megjelennek a képernyőn a kívánt jel-görbék. Ha a procedúra során hiba lép fel, a végrehajtás megszakad, a menü alapállapotba vált és a *vezérlési-felület* hibakód területén a hibára jellemző egész szám látható. Ha minden rendben volt, a menükurzor a "GetAcq" bejegyzésen marad, a hibakód 0-t mutat és a hibakód utáni területen az utolsó oszcilloszkóp-válasz első 55 karaktere látható. Az újabb adatnyerés és kiértékelés érdekében csupán az ENTER billentyűt kell lenyomnunk.

5.2.2.19./ Kilépés a programból

Ha a menüben a "Quit" pontra állunk és lenyomjuk (21. ábra) az ENTERT, a *vezérlési felületen*, a menü "SetUp" bejegyzésével egyvonalon "Write

to" felirat, alatta pedig a korábban definiált *konfigurációs állomány* neve jelenik meg. Az ENTER újbóli megnyomásakor a beállítások elmentődnek az illető *konfigurációs állományba*. Esc lenyomásakor viszont a rendszer a mentést nem hajtja végre. Ezt követően a "Quit" menüponttal egyvonalon "Are you sure?" kérdés tűnik fel. Ha tényleg ki akarunk lépni, nyomjuk meg ismét az ENTERT.

```
[ Tektronix2230 Data Acquisition Ver.:3.0/QR4.5/1992, by D. Hala ]
Setup      Write to
ResFile
Comment    
LoadAcq
SaveAcq
RS-232
Command
MemCopy
AcqSou
SmoMode
DerMode
EvaType
SetPlot
TimeZero
GetAcq
 

ERROR: 0 * 110

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:12:26
```

21. ábra Kilépés az akciós potenciál programból

5.2.3./ A jelanalizáló rutinok leírása

5.2.3.1./ Akciós potenciál analízis

Miután a *d()* adattömb 0-1. oszlopában előálltak az aktuális XY jelpontok és a 2. oszlopban rendelkezésre áll a "derivált", először az átlagos alapvonal és a *jelzaj* (valójában a bal oldali differencia standard deviációja az alapvonal-meghatározás tartományán; *wavbasstd* rendszerváltozó) kiszámítására kerül sor (*getwavelstat(...)* rutin). A meghatározási-tartomány hosszát az ún. *trigger-pozíció* (oszcilloszkópon állítható) szabja meg: *wavbasave* és *wavbasstd* a képernyő bal szélétől a *trigger*

pozícióig terjedő jelszakasz jellemzői. Ezután a **crossdeter(...)** és a **wavedeter(...)** szubrutinok kijelölik a hasznos jel-tartományok (é.i. ahol az aktuális jel **wavbasave**-ről indulva tartósan (az átlagos felét meghaladó "ideig") túlhalad a **wavbasave + tekvar.bsdmul * wavbasstd** szinten) határait és megadják azok számát (**wavenum** rendszerváltozó). A következő lépésben a végrehajtás a **waveeval(...)** szubrutinnak adódik át, amely meghatározza és egy **wavenum**-szerint redimenzionált **we()** tömbbe tölti a hasznos jeltartományokra (akciós potenciálokra) vonatkozó elektrofiziológiai paramétereket. Végül a **we()** tömb elemeit a **savewave(...)** szubrutin - könnyen áttekinthető, karakteres formátumban kiírja az *eredmény állományba*. A menü-vezérlés helyreállása előtt (feltéve, hogy a **tekvar.plotcf = "X"** feltétel teljesül) az **opengraph(...)** grafikus módba kapcsolja a monitort és a **plotwave(...)** kirajzolja a teljes jeltartományt.

5.2.3.2./ Csúcs kiválasztás

Ha korábban nem került rá sor - tehát akciós potenciál analízist nem kértünk (**tekvar.wavecf <> "X"**) - a program a 5.2.3.1./ pont alatt vázolt módon meghatározza a **wavbasstd** szelekciós zajsztintet. A szelekciós zajsztint alkalmazása implicite azt fejezi ki, hogy a csúcsnak legalább a zaj-szint fölé kell emelkednie. Ezután a **pekdeter(...)** rutin - a csúcsok csökkenő sorrendjében előállítja és a **d()** tömb 3. oszlopába tölti a vonatkozó sorindexeket. (Emlékeztetünk rá, hogy a **d()** tömb által képviselt munkaterület szervezése folytán az *i*-edik jelpont *X*-koordinátája **d(i,0)**, *Y*-koordinátája pedig **d(i,1)** módon érhető el. Miután a **pekdeter(...)** rutin hiba nélkül lefutott a *j*-edik csúcspont koordinátáit **d(d(j,3),0)** és **d(d(j,3),1)** fogják szolgáltatni.) A befejező lépésben megtörténik az eredmények elmentése (**savepeak(...)** rutin; *eredmény file*) és a detektált csúcsok kirajzolása (**opengraph(...)** és **plotpeak(...)** rutinok).

5.2.3.3./ Fázissík analízis

Tényleges fázissík elemzésre (a globális transzmembrán ionáram meghatározására) a program jelen állapotában nem kerül sor. A vonatkozó **tekvar.phascf** kapcsoló aktív állapotba helyezése egyszerűen a jel fázis-sík (*Y()* vs. *dY()/dX*) formában történő felrajzolását jelenti.

5.3./ A CURVEFIT többváltozós nem-lineáris görbeillesztő program

5.3.1./ Indítás:

C:\CURVEFIT [A:\FITDATA] +ENTER

Ahol:

C:\CURVEFIT

:a görbeillesztő program neve az elérési úttal együtt

A:\FITDATA

:a görbepontokat, az illesztendő kifejezést, a paraméterek kezdeti értékeit, valamint az illesztés befejezését meghatározó minimális paramétervektorhossz-változást és négyzeteshiba értéket - jól áttekinthető, táblázatos formában tartalmazó programspecifikus adatállomány (A szögletes zárójelek azt jelzik, hogy az indítás során ilyen állománynév megadása nem kötelező.)

+ENTER

:az ENTER billentyű lenyomását jelzi

5.3.2./ Programleírás

A program indítását követően megjelenő vezérlési felület (22. ábra) a *főmenüt* (1), a *billentyű státusz mezőt* (2) és a *rendszerórát* (3) foglalja magába. A menükurzor, függetlenül attól, hogy a programindítás során adtunk-e meg adatállomány nevet a DOS parancssorban vagy sem, a főmenü első bejegyzésén ("Load") áll. A rendszeróra az indítás óta eltelt időt mutatja "óra:perc:másodperc" formátumban.

5.3.2.1./ Adatállományok betöltése

A CURVEFIT program alapvetően két eltérő szervezésű adatállományt képes kezelni ill. feldolgozni. Az egyszerűbb (nem programspecifikus *adat-file*) csak görbepont koordinátákat tartalmazhat - vesszővel elválasztott táblázatos formában (ld. "Import" menüpont; MATHEMATICAL MODUL: `importmarquardt(...)` szubrutin; 23. ábra).

```

[ CurveFit Ver:1.0/QB/1992 by D. Hala ]
Load
Save
Data
Formula
Parameter
Iterate
Plot
Import
Export
Quit

INSERT:OFF CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:00:49

```

22. ábra A CURVEFIT többváltozós nemlineáris görbeillesztő program indítását követően megjelenő vezérlési felület

-7.00000,	73.00000
-6.00000,	73.08572
-5.00000,	72.65714
-4.00000,	72.51428
-3.00000,	72.74286
-2.00000,	72.74286
-1.00000,	72.51428
0.00000,	72.65714
1.00000,	73.08572
2.00000,	73.00000
3.00000,	73.00000
4.00000,	73.00000
5.00000,	73.00000
6.00000,	72.91428
7.00000,	73.25714
8.00000,	73.65714
9.00000,	74.25714
10.00000,	74.82858
11.00000,	75.91428
12.00000,	78.51428

23. ábra Az Import/Export adatállomány szerkezete

```

@PRG: CURVEFIT 1.0/QB/1992
@FRM: A * (1 - EXP(-B*X(1))) + C
@HDR: Parameter----- Value----- ±Std.Dev-----
@PRM: A                3.43567           0.134561
@PRM: B                0.10983           0.026658
@PRM: C                1.27113           0.213453
@CHI: 1.465564E-3
@PVL: 3.567211E-8
@HDR: Y()----- X(1)-----
@DAT: 1.356           0
@DAT: 1.0231          1.123
@DAT: 3.456           2.307
@DAT: 2.987           2.399
@DAT: 4.2341          4.002
@DAT: 5.6549          6.701
...

```

24. ábra A program-specifikus adatállomány felépítése

A másik *file* típus (ld. "Load" menüpont; MATHEMATICAL MODUL: loadmarquardt(...)) szubrutin; 24. ábra) beolvasandó sorainak első öt karakterpozícióján speciális azonosítókódot találunk. Az azonosítókód első karaktere mindig "@", az utolsó pedig kötelezően ":". A fennmaradó három karakter azt szabja meg, hogy az azonosítókód után álló sorolementeket hogyan kell értelmezni ("@PRG:" :a CURVEFIT-specifikus állományok felismerését biztosító karakterlánc; "@FRM:" :formula sor; "@PRM:" :paraméter sor; "@CHI" :a négyzeteshiba értéke feltéve, hogy a görbepontokat egyszer már megillesztettük; "@PVL:" :a paramétervektor hossza az illesztés befejezésekor; és "@DTA:" :az Y(), X(1),...,X(4) adatok). Az állománynevek begépelése ill. a megadott elérési úton található állományok közül történő kiválasztása a szokásos módon történik (ld. 4.1.6./ pontot).

5.3.2.2./ Az eredmények lemezre mentése

Amennyiben a menü "Save" pontját aktivizáljuk és a megjelenő szerkesztési mezőbe begépeljük a kívánt állománynevet (ld. 5.1.3./ és 5.1.6./ pontokat) programspecifikus mentés fog történni (ld. 4.3.2.1./ pontot; MATHEMATICAL MODUL: `savemarquardt(...)` szubrutin). Ezzel szemben, ha az "Export" menüpontba lépünk, kizárólag a $Y(r), X(r,1), \dots, X(r,4)$ görbepontkoordináták és az illesztett paraméterek alapján számított $\underline{Y}(r)$ függvényértékek íródnak be - vesszővel elválasztva - a specifikált állomány r soraiba (ld. 5.3.2.1./ pontot; MATHEMATICAL MODUL: `exportmarquardt(...)` szubrutin). Az *import-export állomány-formátum* bevezetésével lehetőség nyílt a file-szintű kompatibilitás megvalósítására néhány olyan integrált táblázatkezelő ill. ábrakészítő programmal, amelyek szolgáltatásairól semmiképpen nem mondhattunk le (ld. 6./ fejezetet).

5.3.2.3./ Meglévő adatállományok tartalmának módosítása ill. új görbepontkoordináták bevitele billentyűzetről

Ha a menükurzort a "Data" pontra állítjuk, megnyomjuk az ENTER gombot és a "maximum row:" felirat után megjelenő mezőbe (ld. 5.1.3./ pontot) begépeljük, hogy hány görbepontkoordinátát (sort) tartalmazzon az vonatkozó táblázat - aktivizálódik az `editdata(...)` rutin által vezérelt adatbeviteli (*táblázatszerkesztő*) felület (25. ábra). Az adatbeviteli felület használatával kapcsolatos tudnivalókat a 5.1.4./ pont alatt már áttekintettük. A szerkesztés befejezése, azaz az Esc billentyű lenyomása után (a táblázat bal alsó sarka alatt megjelenő " $|x()| \rightarrow x(?)$ " mezőbe érvényes x-indexeket gépelve) kijelölhetjük, hogy be kívánjuk-e tölteni ill. fel akarjuk-e használni az illesztés és/vagy a kirajzolás során a megfelelő X vektorok hosszát - és ha igen, azok a *táblázat-szerkesztő* melyik x-oszlopában jelenjenek meg.

5.3.2.4./ Kifejezések begépelése ill. módosítása

A főmenü "Formula" pontját aktivizálva a vezérlés először az `editstr(...)` szubrutinnak adódik át (ld. 5.1.3./ és 5.1.5./ pontokat), amelyek

segítségével a kívánt kifejezés a karakterlánc típusú formula rendszerváltozó memóriaterületén megszerkeszthető ill. átírható (26. ábra).

```
[ CurveFit Ver:1.0/QB/1992 by O. Hala ]
Load
Save
Data maximum row: 25 2
Formula
Parameter Y() X(1) X(2) X(3)
Iterate
Plot 0 1 0 0
Import 1 2 0 0
Export 2 3 0 0
Quit 4 4 0 0
7 5 0 0
10 6 0 0
12 7 0 0
12 8 0 0
11 9 0 0
11 10 0 0

|X()| - X(?) 1
|
INSERT: ON CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:31:12
```

25 ábra A "Data" menüpont aktivizálása után megjelenő adatbeviteli felület

```
[ CurveFit Ver:1.0/QB/1992 by O. Hala ]
Load
Save
Data
Formula A*EXP(B*X(1))+C*EXP(D*X(1))
Parameter
Iterate
Plot
Import
Export
Quit

|
INSERT: ON CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:31:59
```

26. ábra Az illesztendő kifejezés bevitel

Ha az `editstr(...)` szubrutinból az ENTER billentyű lenyomásával lépünk ki megtörténik az adott kifejezés "futtatható" formába kódolása, majd a szükséges paraméterszám szerint reinitializálódnak a `formstr` és `formreg` tömbök (részletesen ld. később)

A vonatkozó programrészlet:

...

CALL editstr(9, 14, mvar.hia, 64, formula, kbar, mstr(0))

:a kifejezés előállítása ill. módosítása a `formula` rendszerváltozóban; (A szerkesztési mező a képrnyő 9-edik sorában a 14. oszloppozícióban fog kezdődni, 64 karakter hosszúságú és `mvar.hia` színű lesz. `kbar` a billentyűzet kezeléséhez használt keytype típusú változó (ld. a 5.1.1./ pontot); a billentyűzet puffer tartalmának átmeneti tárolására a főmenü bejegyzéseit tartalmazó karakterlánc típusú `mstr()` tömb első elemét használtuk fel.

IF kbar.cod = enter THEN

CALL makexeform(formula, exeform(), formvar(), errcod)

:a kifejezést "végrehajtható", lengyel-jelöléses formában [113] tartalmazó exetype típusú `exeform()` (ld. a 5.3.2.4.1./ pontot) és a kifejezés paramétereit és konstansait raktározó vartype típusú `formvar()` (ld. a 5.1.5.1./ és 5.3.2.4.1./ pontokat) tömbök feltöltése (Amennyiben a kódolás során valamilyen hiba lép fel, a kódolási procedúra megszakad és a `makexeform()` rutin az illető hibára jellemző pozitív `errcod` értékkel tér vissza.)

REDIM formstr(0 TO exeform(0).fc) AS SINGLE

:az Levenberg-Marquardt eljárás lefutása után az illesztett paraméterek standard deviációit tartalmazó valós, egyszeres pontosságú numerikus tömb reinitializálása a `makexeform()` eljárás által az `exeform(0).fc` memóriaterületre töltött paraméterszám szerint.

REDIM formreg(0 to exeform(0).oi) AS SINGLE

:`exeform(0).oi + 1` számú, egyszeres pontosságú valós típusú munkaregiszter reinitializálása (Az `exeform(0).oi` aktuális értékét szintén a `makexeform()` futása során kapja meg.)

END IF

...

[113] Nievergelt, J., Farrar, C., J., és Reingold, E., M.: Matematikai problémák megoldásainak számítógépes módszerei. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1977

5.3.2.4.1./ Az illesztendő kifejezések (függvények)
"futtatható" formátuma

Típus:

```

TYPE exetype
  oi AS INTEGER
  cv AS INTEGER
  fc AS INTEGER
END TYPE

```

Ahol: *oi* operátorkód (*oi* < 0), operandus index (*oi* > 0) vagy stop-jel (*oi* = 0); *cv* konstans (*cv* = 1) vagy paraméter tábla (*cv* = 2) jelző; és *fc* függvénykód.

5.3.2.4.2./ A kódoló rutin

```

SUB makexeform( f AS STRING, e() AS exetype, v() AS vartype,
  errcod AS INTEGER)

```

:ahol *f* az `editstr()` rutinnal (vagy valamilyen más módon) megadott karakteres kifejezés; *e()* a `exetype` típusú tömb - lényegében a "futtatható" kifejezés; *v()* `vartype` típusú tömb a konstansok és paraméterek tárolására; *errcod* egész típusú hibakód változó

```

DIM i AS INTEGER
DIM k AS INTEGER
DIM l AS INTEGER
DIM p AS INTEGER
DIM fc AS INTEGER
DIM vn AS STRING
DIM em AS INTEGER

```

:segédváltozók inicializálása

```
errcod = 0
```

:a hibakód nullázása

CALL compress(f, l)
 :a kifejezés felesleges helyköz karaktereinek eltávolítása és hosszának
 (l) meghatározása (részletesen ld. az EDITOR MODUL-ban)

IF l < 1 THEN

errcod = noformerr

EXIT SUB

END IF

:ha az input kifejezés (f) hossza zérus, az errcod változó megkapja a
 noformerr konstans értékét (ld. MATHEMATICAL MODUL) és a vezérlés
 visszaadódik a hívó rutinnak

f = UCASE(f)

:az input kifejezés nagybetűs alakba konvertálódik

em = UBOUND(e, 1)

:em-be töltődik a rutinon kívül inicializált e()-tömb utolsó érvényes
 sorának száma

e(0).oi = 0 :mutató az utolsó feldolgozott műveletre

e(0).cv = 0 :mutató a konstans táblázat utolsó bejegyzésére

e(0).fc = 0 :mutató a paraméter táblázat utolsó elemére

k = 1

FOR i = 1 TO l

p = -INSTR(operators, MID\$(f, i, 1)

IF p THEN

:ha a formula i-edik karaktere műveleti jel, azaz programunkban
 rendre "(", ")", ",", "+", "-", "*", "/", vagy "^", akkor megtörténik a műveleti jel előtt
 álló azonosító kódolása (Az operátor kódját (és egyben prioritását is) az operátor-
 listában (operators szövegkonstans) elfoglalt pozíció fogja meghatározni.)

GOSUB makexeform01

:az azonosító (konstans, változónév vagy függvény) kódolása

GOSUB makexeform02

:a kód beírása az e() tömbbe
 (primér "végrehajtható" kifejezés)

END IF

NEXT i

GOSUB makexeform01

:az utolsó operandus kódolása

DIM eo(0 TO e(0).oi)

DIM es(0 TO e(0).oi)

:segédterek lefoglalása az *output* kifejezés és egy *stack-tömb* számára

eo(0).oi = 0

es(0).oi = 0

:az utolsó elemre mutató *pointerek* nullázása

FOR i = 1 to e(0).oi

:a kódolt kifejezés elemek egymásutáni feldolgozását vezérlő ciklus

IF errcod THEN

errcod = formsyntaxerr

EXIT SUB

END IF

:ha a kódolt kifejezés feldolgozása alatt hiba lép fel, akkor az **errcod** változóba bekerül a **formsyntaxerr** konstans értéke (ld. MATHEMATICAL MODUL)

IF e(i).oi > 0 THEN

eo(0).oi = eo(0).oi + 1

eo(eo(0).oi) = e(i)

:ha a soronkövetkező kód operandusra utal, akkor a végmutató értéke inkrementálódik, és az illető kód beíródik az *output* "végrehajtható" kifejezés megfelelő rekeszébe

ELSE

IF e(i).oi = opbara THEN

es(0).oi = es(0).oi + 1

es(es(0).oi) = e(i)

:ha a soronkövetkező kód nyitózárrójelnek felel meg, akkor a *stack-végpointer* eggyel nő és az illető kód bemásolódik a megcímzett új *stack-regiszterbe*

ELSE

IF e(i).oi = cobra THEN

DO WHILE es(es(0).oi).oi <> opbra

GOSUB makexeform03

:a vessző-operátor kiszűrése (ld. lejjebb)

LOOP

:ha viszont a soronkövetkező csukózárójelet takar, a *stackben* tárolt kódok - mindaddig, amíg a *stack-pointer* nyitózárójelhez nem érkezik - átmásolódnak az *output* területre

IF es(es(0).oi).fc < > 0 THEN

eo(0).oi = eo(0).oi + 1

eo(eo(0).oi) = e(es(0).oi)

:ha a *stackben* lévő nyitózárójel mellett függvénykód áll, akkor a nyitózárójel kódot tartalmazó *stack-regiszter* bemásolódik az *output* terület eo(0).oi-edik regiszterébe

END IF

es(0).oi = es(0).oi - 1

:a *stackből* törlődik a nyitózárójel kód

ELSE

DO WHILE es(es(0).oi).oi <= e(i).oi

AND es(0).oi > 0

GOSUB makexeform03

:a vessző-operátor kiszűrése

LOOP

:minden más esetben a *stack* tartalma mindaddig átíródik az *output* területre, amíg az aktuálisan feldolgozandó műveleti kód értéke (prioritása) nagyobb nem lesz soronkövetkező *stack-operátor-kód* értékénél vagy nincs több elem a *stackben*

es(0).oi = es(0).oi + 1

es(es(0).oi) = e(i)

:a feldolgozás alatt lévő műveleti kódot tartalmazó e() regiszter a *stack* "tetejére" (a *stack-pointer* által címzett területre) másolódik

END IF

END IF

END IF

NEXT i

DO WHILE es(0).oi > 0

GOSUB makexeform03

:a vessző-operátor kiszűrése

LOOP

:ha elfogytak a feldolgozandó kódok, a *stackben* várakozó összes "végrehajtható" kifejezés elem kikerül az *outputra*.

FOR i = 1 TO eo(0).oi

e(i) = eo(i)

NEXT i

:az ideiglenes *output* bemásolódik e()-be és ezzel a "végrehajtható" kifejezés előállítása befejeződött (a vezérlés visszatér a hívó rutinnak)

EXIT SUB

makexeform01:

:belső szubrutin az azonosítók ill. függvénykódok meghatározásához

vn = MID\$(f, k, i - k)

:az *f* *forrás-kifejezés* aktuális azonosítója karakteres formában átkerül a *vn* segédváltozóba

SELECT CASE vn

CASE ""

CASE "X": fc = fxdat

CASE "Y": fc = fydat

CASE "YPTR" fc = fyptr

CASE "EXP" fc = fexp

CASE "LOG" fc = flog

CASE "LOG10" fc = flog10

CASE "SIGN" fc = fsign

CASE "ABS" fc = fabs

CASE "INT" fc = fint

CASE "FRAC" fc = ffrac

CASE "ROUND" fc = fround

:ha a kérdéses azonosító megfelel valamelyik belső függvénynek, akkor a vonatkozó függvénykód előáll az *fc* segédváltozóban (Vegyük észre, hogy az X ill. Y változókra történő hivatkozások feldolgozása is függvényyszerűen történik.)

CASE ELSE

e(0).oi = e(0).oi + 1

IF e(0).oi > em **THEN**

```
errcod = longformerr
```

```
EXIT SUB
```

```
END IF
```

```
CALL allocatevar( vn, e(e(0).oi).oi, e(e(0).oi).cv, e(0).cv, e(0).fc,
```

```
v())
```

:minden más esetben az azonosító - feltéve, hogy korábban nem szerepelt - beíródik a konstans vagy paraméter nyilvántartó táblázat végére, majd a megfelelő táblaszelektor és táblaindex megjelenik a primér "végrehajtható" kódban.

```
fc = 0
```

```
END SELECT
```

```
RETURN
```

makexeform02:

```
e(0).oi = e(0).oi + 1
```

```
IF e(0).oi > em THEN
```

```
errcod = longformerr
```

```
EXIT SUB
```

```
END IF
```

:a primér "végrehajtható" kód mutatója a következő regiszterre ugrik; ha ez kívül esik a lefoglalt területen, a rutin futása megszakad

```
e(e(0).oi).oi = p
```

```
e(e(0).oi).cv = 0
```

```
e(e(0).oi).fc = fc
```

:a primér "futtatható" kód mutatója által címzett területre beíródik a műveleti kód, a konstans/változó tábla szelektorba zérus kerül és az `e(e(0).oi).fc` felveszi a megfelelő függvénykódot

```
k = i + 1
```

```
RETURN
```

makexeform03:

```
IF es(es(0).oi).oi <> comma THEN
```

```
eo(0).oi = eo(0).oi + 1
```

```
eo(eo(0).oi) = es(es(0).oi)
```

:amennyiben az operátor nem ",", a *stack* aktuális rekesze (az amire a *stack-pointer* mutat) bemásolódik az `eo()` output formula-tömb következő

regiszterébe (a vesszőt operátorként azért vezettük be, hogy - egy következő verzióban - többváltozós belső függvényeket is alkalmazhassunk)

```

END IF
es(0).oi = es(0).oi - 1
      :a stack-poiter dekrementálása
RETURN
END SUB

```

5.3.2.4.3./ Kódolt kifejezések "futtatása"

```

SUB calculator(e() AS exetype ,v() AS vartype ,r() AS SINGLE,
      dyptr AS INTEGER, dat() AS SINGLE, errcod)

```

Ahol: e() a "futtatható" kifejezés; v() a konstans és paraméter nyilvántartó táblázat; r() munkaregiszter tömb (a rutin lefutása után a kifejezés értéke r(1)-ként érhető el); dyptr a dat() tömb azon sora, amely adatait Y(X(1), ... X(4)) kifejezésbe be kívánjuk helyettesíteni; errcod a hibakód változó

```

DIM i    AS INTEGER
DIM r1   AS INTEGER
DIM r2   AS INTEGER
      :segédváltozók inicializálása

r1 = 0
r2 = 0
FOR i = 1 TO e(0).oi
      :a kódolt kifejezés-elemeket sorraevő ciklus feje

      IF e(i).oi > 0 THEN
          r1 = r1 + 1
          r(r1) = v(e(i).oi, e(i).cv).v
          :ha az aktuális e().oi kód operandusra utal, a munkaregiszter
pointer (r1) megcímzi a következő munkaregisztert, ahova, a következő lépésben, a
konstans/paraméter nyilvántartási táblából a megfelelő érték bemásolódik

```

ELSE

SELECT CASE e(i).oi

CASE pluss

$r2 = r1 - 1$

$r(r2) = r(r2) + r(r1)$

$r1 = r2$

CASE minus

$r2 = r1 - 1$

$r(r2) = r(r2) - r(r1)$

$r1 = r2$

CASE multi

$r2 = r1 - 1$

$r(r2) = r(r2) * r(r1)$

$r1 = r2$

CASE divid

$r2 = r1 - 1$

$r(r2) = r(r2) / r(r1)$

$r1 = r2$

CASE power

$r2 = r1 - 1$

$r(r2) = r(r2) ^ r(r1)$

$r1 = r2$

:ha a műveletikód összeadásra, kivonásra, szorzásra, osztásra vagy hatványozásra utal, a kijelölt művelet végrehajtódik

CASE opbra

ha az **e(i).oi**-ben nyitózároljel kód áll, a rutin függvény műveletet hajt végre az aktuális munkaregiszter tartalmával:

SELECT CASE e(i).fc

CASE fxdat

$r(r1) = \text{dat}(\text{dyptr}, r(r1))$

:x-érték betöltése a **dyptr** által meghatározott sorból

CASE fydatt

$r(r1) = \text{dat}(r(r1), 0)$
 :y-érték betöltése az aktuális munkaregiszter tartalmát címként használva

CASE fyptr

$r1 = r1 + 1$
 $r(r1) = \text{dyptr}$
 :a **dyptr** tartalmának betöltése a soronkövetkező munkaregiszterbe

CASE fexp

$r(r1) = \text{EXP}(r(r1))$
 :exponenciális képzés

CASE flog

$r(r1) = \text{LOG}(r(r1))$
 :természetes alapú logaritmus képzése

CASE flog10

$r(r1) = \text{LOG}(r(r1))/\log 10$
 :10-es alapú logaritmus képzése

CASE fsign

$r(r1) = \text{SIG}(r(r1))$
 :az aktuális munka regiszter előjelétől függően 1, 0 vagy -1 betöltése

CASE fabs

$r(r1) = \text{ABS}(r(r1))$
 :abszolútérték képzés

CASE fint

$r(r1) = \text{FIX}(r(r1))$
 :egészrész képzés

CASE ffrac

$r(r1) = r(r1) - \text{FIX}(r(r1))$
 :tötrész képzés



```

CASE fround
  IF r(r1) < 0 THEN
    r(r1) = FIX( r(r1) - 0.5 )
  ELSE
    IF r(r1) > 0 THEN
      r(r1) = FIX(r(r1) + 0.5)
    END IF
  END IF
CASE ELSE
END SELECT
END SELECT
END IF
NEXT i
END SUB

```

5.3.2.5./ Kezdeti-értékek megadása ill. az illesztett paraméterek megtekintése

Amennyiben a menü "Parameter" pontjára állunk és megnyomjuk az ENTER billentyűt, a vezérlési felületen megjelenik a paraméter-editor (27. ábra; EDITOR MODUL: `editformvar()` szubrutin). A paraméter-editor működtetésével kapcsolatos billentyű funkciók azonosak a billentyűzetről tört adatbevitel ismertetése során leírtakkal. Az egyetlen különbség, hogy itt a numerikus értékek közvetlen szerkesztését biztosító egysoros szövegszerkesztő pozíciója kizárólag a paraméter-oszlopban változtatható - tehát kívülről, ezen menüpontban, sem a paraméter-azonosítók, sem az esetleges standard deviációk nem módosíthatók. Az aktuális kifejezés a paraméter-editor felett folyamatosan látható. Ha a görbe-pontokat és a kívánt kifejezést bevittük ugyan, de az `editformvar()` rutinnal nem adunk kezdeti értékeket az illesztendő paramétereknek, az illesztőeljárás (`marquardt()` ld. később) nem fog lefutni.

```

CurveFit Ver:1.0/QB/1992 by D. Hala

Load
Save
Data
Formula A*(EXP(B*X(1))-EXP(C*X(1)))^D
Parameter
Iterate          Value          ±Std.Dev.
Plot
Import           A              24.38323          1.85652
Export           B              -6.002606E-03     1.867802E-03
Quit             C              -5.580257         6.225052E-02
                  D              12.3006           3.319682

INSERT: ON CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:31:47

```

27. ábra Kezdeti paraméterértékek begépelése

A vonatkozó rutin hívása:

```
CALL editformvar( r AS INTEGER, c AS INTEGER, rn AS INTEGER,
loa AS INTEGER, hia AS INTEGER, mv AS INTEGER,
v() AS vartype, vs() AS SINGLE, k AS keytype,
b AS STRING)
```

Ahol: **r** és **c** a képernyőn megjelenő adatbeviteli felület bal felső sarkának sor ill. oszlop pozíciója; **rn** az adatbeviteli ablak sorainak száma; **loa** a globális szín-attribútum; **hia** az éppen aktív paramétercella (amibe az **editstr()** egysoros szövegszerkesztővel éppen gépelünk) szín-attribútuma; **mv** az utolsó érvényes paraméter-index a **v()** ill **vs()** tömbökben; **v()** a paraméterneveket és a vonatkozó numerikus értékeket tároló, vartype típusú struktúrált tömb; **vs()** valós, egyszeres pontosságú, vektor az illesztőeljárás problémamentes lefutása után meghatározott standard paraméter-deviációk számára; **k** a már ismertetett keytype típusú struktúrált változó (ld. a 5.1.1./ pontot); és **b** karakterlánc típusú változó a billentyűzet-puffer tartalmának tárolásához.

```

[ CurveFit Ver:1.0/QB/1992 by O. Hala ]
Load
Save
Data
Formula
Parameter
Iterate until parameter change ... 0.2
Plot
Import
Export
Quit

INSERT: ON CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:35:23

```

28. ábra Az iteráció elindítása

5.3.2.6./ A görbeillesztés

A CURVEFIT program jelen verziójában - ahhoz, hogy a Levenberg-Marquardt eljárást elindítsuk, az "Iterate" menüpont aktiválása után be kell gépeelnünk azon paramétervektor-hosszt, amely elérése esetén az illesztést befejezettnek tekintjük (28. ábra). Az illesztőeljárás futása alatt a négyzeteshiba és a paramétervektor hossz - az "Iterate until parameter change ..." felirattal egyvonalban levő adatmező alatt - folyamatosan látható. A sikeres iterációs lépéseket (é.i.: a négyzeteshiba aktuális értéke kisebb, mint a korábban elért legkisebb) 100 Hz frekvenciájú 1 sec időtartamú hangjelzés jelzi. Ha a terminálófeltétel teljesül, a vezérlési felületen újra csak a főmenü látható (a menükurzor az "Iterate" bejegyzésen marad). Amennyiben, például, mert nem vagyunk megelégedve a négyzeteshiba értékével, újra meghívjuk az iterációs eljárást, a bevitelmezőben megjelenő paramétervektor-hossz limitet (ami nem az általunk eredetileg begépelte, hanem annál esetleg jóval kisebb - az éppen lefutott

illesztés során elért - érték lesz) nem célszerű átírni - elegendő ha ENTER-rel megerősítjük.

5.3.2.6.1/ A Levenberg-Marquardt eljárás

Valamely görbeillesztés lényegében egy alkalmasan megválasztott hibafüggvény minimalizálását jelenti. Legyen a hibafüggvény a következő alakú:

$$g(\mathbf{p}) = \sum_{i=1}^N (y_i - f(\mathbf{p}, x_i))^2$$

ahol: \mathbf{p} : az illesztendő paraméterek vektora;
 $\mathbf{p} = [p_j], j = 1, 2, \dots, M$

N : a mérési pontok száma

y_i : az i -edik érési pont

$f(\mathbf{p}, x_i)$: az illesztendő függvény

A *Taylor-formula* alapján a $g()$ hibafüggvény értéke a paraméterter $\mathbf{p} + \mathbf{h}$ pontjában:

$$g(\mathbf{p} + \mathbf{h}) = g(\mathbf{p}) + \frac{d g(\mathbf{p})}{d \mathbf{p}} * \mathbf{h} + \frac{1}{2} \frac{d^2 g(\mathbf{p})}{d \mathbf{p}^2} * \mathbf{h}^2 + \dots$$

Legyen a $g()$ függvénynek minimuma a $(\mathbf{p} + \mathbf{h})$ helyen - és hagyjuk el a *Taylor-formula* magasabb hatványú tagjait, azaz:

$$\frac{d g(\mathbf{p} + \mathbf{h})}{d \mathbf{h}} = \frac{d g(\mathbf{p})}{d \mathbf{p}} + \frac{d^2 g(\mathbf{p})}{d \mathbf{p}^2} \mathbf{h} = 0$$

A \mathbf{h} vektor elemeit tehát az alábbi lineáris egyenletrendszer megoldása fogja szolgáltatni:

$$-\frac{d g(\mathbf{p})}{d \mathbf{p}} = \frac{d^2 g(\mathbf{p})}{d \mathbf{p}^2} * \mathbf{h}$$

azaz valamely p_i paraméter-vektorból kiindulva:

$$p_{\min} = p_i + h = p_i + \left| \frac{d^2 g(p_i)}{d p_i^2} \right|^{-1} \left| - \frac{d g(p_i)}{d p_i} \right|$$

A *Taylor-formula* leegyszerűsítése miatt előfordulhat azonban, hogy az utóbbi összefüggés a minimális hibafüggvényértéket produkáló p_{\min} paraméter-vektor túlságosan durva közelítést szolgáltatja. A legjobb, amit ilyen esetben tehetünk, hogy megfelelően kis felbontást biztosító konstanssal addig lépünk a hibafüggvény grádiense mentén lefelé (vagyis a $-dg(p)/dp$ irányban), amíg a minimumot el nem érjük - azaz:

$$p_{i+1} = p_i + \text{konstans} * \left| - \frac{d g(p_i)}{d p_i} \right|$$

Előállítva a konkrét hibafüggvény paramétertéren vett első és második deriváltját felírhatjuk, hogy:

$$- \frac{1}{2} * \frac{d g(p)}{d p_k} = \text{SUMMA}_{i=1}^N (y_i - f(p, x_i)) * \frac{d f(p, x_i)}{d p_k}$$

és

$$\frac{1}{2} * \frac{d^2 g(p)}{d p_k * d p_l} = \text{SUMMA}_{i=1}^N \frac{d f(p, x_i)}{d p_k} * \frac{d f(p, x_i)}{d p_l} - \text{SUMMA}_{i=1}^N (y_i - f(p, x_i)) * \frac{d^2 f(p, x_i)}{d p_k * d p_l}$$

Hogy második deriváltat ne kelljen számolni, éljünk a következő egyszerűsítéssel:

$$\alpha_{k,l} = \frac{1}{2} * \frac{d^2 g(p)}{d p_k * d p_l} = \text{SUMMA}_{i=1}^N \frac{d f(p, x_i)}{d p_k} * \frac{d f(p, x_i)}{d p_l}$$

és legyen

$$\beta_k = - \frac{1}{2} * \frac{d g(p)}{d p_k} = \text{SUMMA}_{i=1}^N \frac{d f(p, x_i)}{d p_k} * \frac{d f(p, x_i)}{d p_l}$$

Igy:

$$1./ \quad \beta_k = \sum_{l=1}^M \alpha_{k,l} * h_l \quad \text{ill.} \quad 2./ \quad h'_l = \text{konstans} * \beta_l$$

A

$$\text{konstans} = \frac{1}{\text{lambd}a * \alpha_{1,1}}$$

és az

$$\alpha'_{j,j} = \alpha_{j,j} * (1 + \text{lambd}a)$$

$$\alpha'_{j,k} = \alpha_{j,k} \text{ ha } (j \neq k)$$

választással az 1./ és 2./ összefüggések egyetlen rendszerbe ötvözhetőek:

$$3./ \quad \beta_k = \sum_{l=1}^M \alpha'_{k,l} * h_l$$

Amikor lambd értéke nagy, 3./ nyilvánvalóan 2./-be megy át - míg, ha lambd közel zérus 3./ 1./-gyel válik azonossá [114].

A hibafüggvény minimalizálása - a fentiek figyelembevételével - a következő módon történhet:

- a./ adott kezdeti \mathbf{p} paramétervektorral kiszámítjuk $g(\mathbf{p})$ -t
- b./ válasszuk lambdát megfelelően kicsinek (mondjuk 0.001-nek)
- c./ oldjuk meg a 3./ lineáris egyenletrendszer \mathbf{h} -ra
- d./ számítsuk ki a hibafüggvény értékét a $(\mathbf{p} + \mathbf{h})$ helyen
- e./ ha $g(\mathbf{p} + \mathbf{h}) \geq g(\mathbf{p})$ növeljük meg lambdát (pl. 10-szeresére)
és menjünk vissza c./-re
- f./ ha $g(\mathbf{p} + \mathbf{h}) < g(\mathbf{p})$ töltsük $(\mathbf{p} + \mathbf{h})$ -t \mathbf{p} -be
 - f.1./ ha a **leállási feltétel** (ld. lejjebb) teljesül - készen vagyunk!
 - f.2./ egyébként csökkentjük lambdát (mondjuk 10-edére) és menjünk vissza c./-re

[114] 1./ Levenberg, K.: A method for the solution of certain nonlinear problems in least squares. Quart. Appl. Math. 2:164 (1944); 2./ Marquardt, D., W.: An algorithm for least squares estimation of nonlinear parameters. SIAM J. Appl. Math. 11:431 (1963); 3./ Valkó P. és Vajda S.: Műszaki tudományos feladatok megoldása személyi számítógéppel. Műszaki Kiadó, Budapest, 1987

A tesztelés során bebizonyosodott, hogy a CURVEFIT programban alkalmazott **leállási feltétel** - nevezetesen a paramétervektorhossz változásának egy felhasználó által megadott érték (**dvlimit**) alá csökkenése - nem igazán jó. Különösen zezugos, bonyolult felépítésű $g(\mathbf{p})$ felületek esetén nem ritka, hogy minimális paramétervektorhossz változások mellett a hibafüggvény értéke még intenzíven csökken. A jelen programváltozat esetében tehát - annak érdekében, hogy eldönthessük, hogy valóban az elérhető minimális $g(\mathbf{p})$ értéknél vagyunk-e vagy sem - minden illesztést gyakorlatilag kétszer célszerű lefuttatni. Amennyiben a procedúrát két egymást követő hatékony iterációs lépés (é.i: a lambda csökken) négyzetes hibájának egymáshoz való viszonya alapján termináljuk (pl.: $g(\mathbf{p}_i)/g(\mathbf{p}_{i-1}) > 0.9999$) - semmilyen önkényes *hibakorlát* megadására nincs szükség és az említett ellenőrzést sem kell elvégezni.

5.3.2.6.2./ Az illesztett paraméterek standard deviációja

Felhasználva a numerikus analízisből ismert alábbi összefüggéseket [115]:

$$\delta f(x) = \delta x * \frac{d f(x)}{d x} \quad \text{és} \quad \delta^2 f(x) = \frac{1}{N} * \text{SUMMA}_{i=1}^N (y_i - f(x_i))^2$$

bizonyítható, hogy a k-adik paraméter standard deviációja lineáris $f(x)$ esetén:

$$\pm \left(\frac{g(\mathbf{p})}{NF} * [\alpha_{k,k}]^{-1} \right)^{1/2}$$

ahol: $g(\mathbf{p})$: a már ismert hibafüggvény

NF: az un. szabadságifok
(N mérési pont és M paraméter esetén $NF = N - M$)

$[\alpha_{k,k}]^{-1}$: az inverz mátrix k-adik diagonális eleme

[115] 1./ Szidarovszky F.: Bevezetés a numerikus módszerekbe. Közgazdasági és Jogi Könyvkiadó, Budapest, 1974; ...

Az utóbbi képlet alkalmazása nem-lineáris függvényekre, ha a görbepontokat szolgáltató mérés pontos és a modell jó, különösebb problémát nem okoz.

5.3.2.6.3/ A görbeillesztő szubrutin

```
SUB marquardt( sr AS INTEGER, sc AS INTEGER, sa AS INTEGER,
               dvlimit AS SINGLE, e() AS exetype, v() AS vartype,
               vs() AS SINGLE, r() AS AS SINGLE,
               maxydat AS INTEGER, dat() AS SINGLE,
               errcod AS INTEGER )
```

Ahol: **sr**, **sc**, **sa** a részeredmények kiíratásához szükséges képernyőparaméterek; **dvlimit** a paramétervektorhossz limit (ha az aktuális paramétervektorhossz **dvlimit** alá csökken - és az adott lépésben a négyzeteshiba is kisebb bármelyik korábban elért értéknél - az iterációt befejezettnek tekintjük); **e()** az **exetype** típusú "végrehajtható" kifejezés; **v()** a konstans ill. paraméter nyilvántartó táblázat; **vs()** olyan egyszeres pontosságú valós vektor, amelybe az illesztett paraméterek standard deviációi fognak kerülni; **r()** munkaregiszterek a kifejezés kiértékeléséhez; **maxydat** azon [y; x(1), x(2),...,x(4)] mérési pontok száma, amelyekre az adott függvényt illeszteni kívánjuk; **dat()** a méréspontokat tartalmazó egyszeres pontosságú valós tömb; **errcod** a hibakód változó.

DIM i AS INTEGER

DIM j AS INTEGER

DIM k AS INTEGER

DIM alambda AS SINGLE

DIM chi AS SINGLE

DIM oldchi AS SINGLE

DIM dy AS SINGLE

DIM wt AS SINGLE

DIM oldv(1 TO e(0).fc) AS SINGLE

DIM alpha(1 TO e(0).fc, 1 TO e(0).fc) AS SINGLE

DIM beta(1 TO e(0).fc) AS SINGLE

DIM oldbeta(1 TO e(0).fc) AS SINGLE

DIM covar(1 TO e(0).fc, 1 TO e(0).fc) AS SINGLE

```

DIM dv(1 TO e(0).fc)           AS SINGLE
DIM newdv(1 TO e(0).fc)       AS SINGLE

errcod = 0

CALL marquardtofs( oldchi, alpha(), oldbeta(), e(), v(), r(), maxydat,
                  dat(), errcod)
IF errcod THEN
    errcod = marquardtterr
    EXIT SUB
END IF

alambda = 0.001
FOR j = 1 TO e(0).fc
    oldv(j) = v(j,2).v
NEXT j

DO
    FOR j = 1 TO e(0).fc
        FOR k = 1 TO e(0).fc
            covar(j, k) = alpha(j, k)
        NEXT k
        covar(j, j) = alpha(j, j) * (1 + alambda)
        IF errcod THEN GOTO marquardt01
        newdv(j) = oldbeta(j)
    NEXT j
    CALL gaussjordan(e(0).fc, covar(), newdv(), errcod)
    IF errcod then goto marquardt01

    FOR j = 1 TO e(0).fc
        dv(j) = newdv(j)
        v(j, 2).v = oldv(j) + dv(j)
    NEXT j

    CALL marquardtofs( chi, covar(), dv(), e(), v(), r(),maxydat,
                    dat(), errcod)
    IF errcod THEN GOTO marquardt

```

```

IF chi < oldchi THEN
  dvsize = 0
  oldchi = chi
  FOR j = 1 TO e(0).fc
    FOR k = 1 TO e(0).fc
      alpha(j, k) = covar(j, k)
    NEXT k
    dvsize = dvsize + dv(j) * dv(j)
    oldv(j) = v(j, 2).v
    oldbeta(j) dv(j)
  NEXT j
  dvsize = dvsize ^0.5
  outstr = STR$( dvsize )
  CALL xqprintd( outstr, sr, sc, sa, 0 )
  IF dvsize < dvlimit then GOTO marquardt02
  alambda = 0.1 * alambda
ELSE
  alambda = 10 * alambda
END IF

```

```

SOUND 100,1
LOOP WHILE INKEY$ = ""

```

```

marquardt01:
  FOR j = 1 TO e(0).fc
    v(j, 2).v = old(j)
  NEXT j
  dvlimit = dvsize
EXIT SUB

```

```

marquardt02:
  FOR j = 1 TO e(0).fc
    FOR k = 1 TO e(0).fc
      covar(j, k) = alpha(j, k)
    NEXT k
    newdv(j) = oldbeta(j)
  NEXT j

```

```

NEXT j
CALL gaussjordan(e(0).fc, covar(), newdv(), errcod)
IF errcod THEN EXIT SUB

```

```

vs(0) = oldchi / (maxydat - e(0).fc)
FOR j = 1 TO e(0).fc
    vs(j) = (vs(0) * ABS(covar(j, j)))^0.5
NEXT j

```

```

dvlimit = dvsiz

```

```

END SUB

```

```

SUB marquardtofs( chi AS SINGLE, alpha() AS SINGLE, beta() AS SINGLE,
e() AS exetype, v() as vartype, r() AS SINGLE,
maxydat AS INTEGER, dat() AS SINGLE,
errcod AS INTEGER )

```

```

DIM i AS INTEGER
DIM j AS INTEGER
DIM k AS INTEGER

```

```

DIM dv(1 TO e(0).fc) AS SINGLE
DIM dyda(1 TO e(0).fc) AS SINGLE

```

```

FOR i = 1 TO maxydat
    FOR k = 1 TO e(0).fc
        dv(k) = 0.001 * ABS( v(k, 2).v ) + 0.000001
        v(k, 2).v = v(k, 2).v + dv(k)
        CALL calculator(e(), v(), r(), i, dat(), errcod)
        v(k, 2).v = v(k, 2).v - dv(k)
        IF errcod THEN EXIT SUB

```

```

        dyda(k) = r(1)/dv(k)

```

```

    NEXT k
    CALL calculator(e(), v(), r(), i, dat(), errcod)

```

```

IF errcod THEN EXIT SUB

FOR k = 1 TO e(0).fc
    dyda(k) = dyda(k) - r(1)/dv(k)
NEXT k

r(0) = dat(i, 0) - r(1)
FOR j = 1 TO e(0).fc
    wt = dyda(j)
    FOR k = 1 TO j
        alpha(j, k) = alpha(j, k) + wt * dyda(k)
    NEXT k
    beta(j) = bata(j) + wt * r(0)
NEXT j

chi = chi + r(0) * r(0)
NEXT i

FOR j = 2 TO e(0).fc
    FOR k = 1 TO e(0).fc
        alpha(k, j) = alpha(j, k)
    NEXT k
NEXT j

END SUB

SUB gaussjordan(    n AS INTEGER, a() AS SINGLE, b() AS SINGLE,
                    errcod AS INTEGER )

DIM i    AS INTEGER
DIM j    AS INTEGER
DIM k    AS INTEGER
DIM l    AS INTEGER

```

```

DIM irow AS INTEGER
DIM icol AS INTEGER

DIM dum AS SINGLE
DIM big AS SINGLE
DIM pivin AS SINGLE

DIM ipivot(1 TO n) AS INTEGER
DIM indxr(1 TO n) AS INTEGER
DIM indxc(1 TO n) AS INTEGER

FOR i = 1 TO n
  big = 0
  FOR j = 1 TO n
    IF ipivot(j) <> 1 THEN
      FOR k = 1 TO n
        IF ipivot(k) = 0 THEN
          IF ABS(a(j,k)) >= big THEN
            big = ABS(a(j,k))
            irow = j
            icol = k
          END IF
        ELSE
          IF ipivot(k) > 1 THEN
            errcod = singularityerr
            EXIT SUB
          END IF
        END IF
      NEXT k
    END IF
  NEXT j

  ipivot(icol) = ipivot(icol) + 1
  IF icol <> irow THEN
    FOR l = 1 TO n
      dum = a(irow, l)
      a(irow, l) = a(icol, l)
    NEXT l
  END IF
NEXT i

```

```

        a(icol, l) = dum
    NEXT l
    dum = b(irow)
    b(irow) = b(icol)
    b(icol) = dum
END IF

indxr(i) = irow
indxc(i) = icol
IF a(icol, icol) = 0 THEN
    errcod = syngularityerr
    EXIT SUB
END IF

pivin = 1 / a(icol, icol)
a(icol, icol) = 1
FOR l = 1 TO n
    a(icol, l) = pivin * a(icol, l)
NEXT l
b(icol) = pivin * b(icol)

FOR k = 1 TO n
    IF k <> icol THEN
        dum = a(k, icol)
        a(k, icol) = 0
        FOR l = 1 TO n
            a(k, l) = a(k, l) - a(icol, l) * dum
        NEXT l
        b(k) = b(k) - b(icol) * dum
    END IF
NEXT k
NEXT i

FOR l = n TO 1 STEP -1
    IF indxr(l) <> indxc(l) THEN
        FOR k = 1 TO n
            dum = a(k, indxr(l))

```

```

a(k, indxr(l)) = a(k, indxc(l))
a(k, indxc(l)) = dum
NEXT k
END IF
NEXT I
END SUB

```

```

[ CurveFit Ver:1.0/QB/1992 by D. Hale ]
Load
Save
Data
Formula
Parameter
Iterate
Plot current X(?) 1
Import
Export
Quit

INSERT: ON CAPS:OFF NUM:OFF SCROLL:OFF 00:45:02

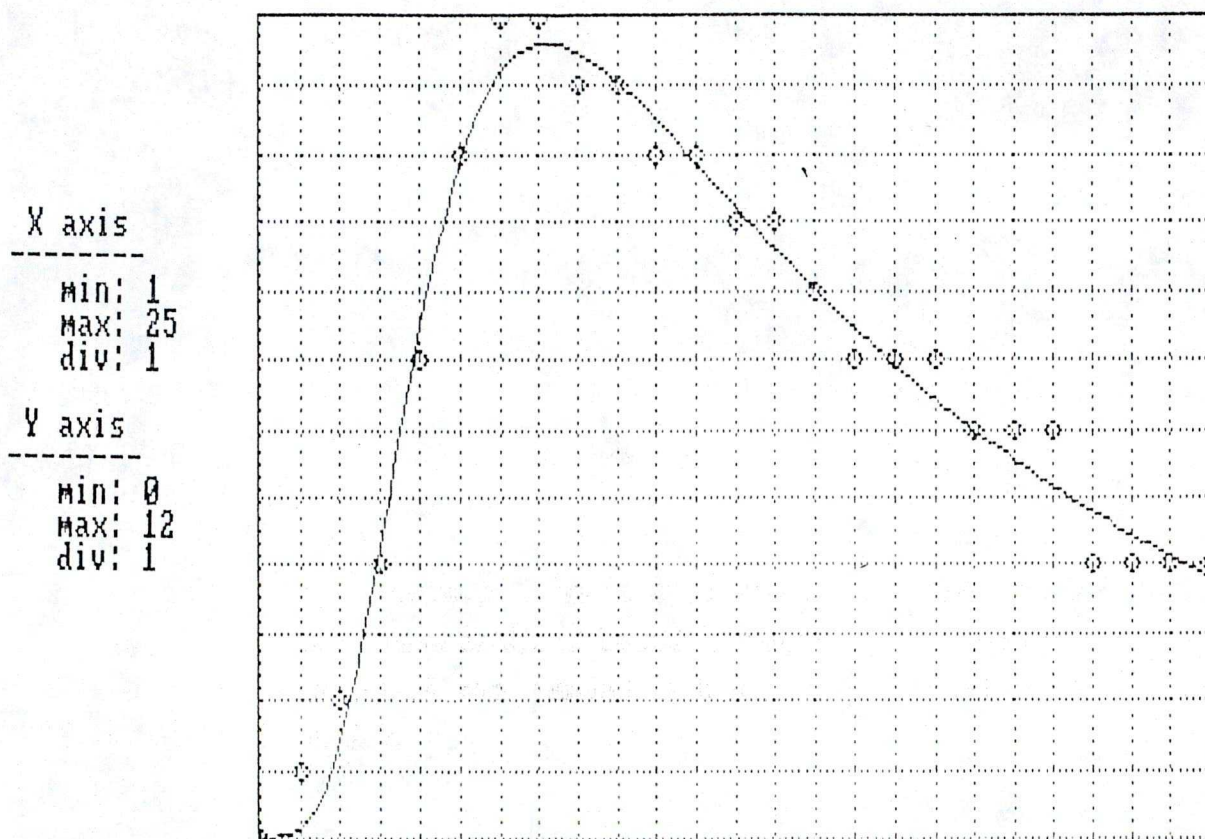
```

29. ábra A görberajzolás elindítása

5.3.2.7./ Az illesztett paraméterek alapján számított görbe és a mérési pontok kirajzolása

Amikor a Levenberg-Marquardt eljárás hiba nélkül futott le, mielőtt a vezérlés visszaadódna a főmenünek, a **curvcalc(...)** szubrutin (CURVEFIT, MATHEMATICAL MODUL) a kirajzolóhoz szükséges extra adatokat/számítási eredményeket betölti a **pdat()** egyszeres pontosságú valós tömbbe. Ha aktivizáljuk a főmenü "Plot" pontját, és megadjuk hogy az aktuális $Y(x(1), x(2), \dots, x(4))$ függvény melyik $X()$ szerinti vetületét kívánjuk látni (29. ábra)

- működésbe lép a `cuevegraph(...)` rutin és a vonatkozó mérési pontok ill. a függvény-görbe (dinamikusán skálázott koordináta-keretbe foglalva) felrajzolódik a képernyőre (30. ábra). A rajz mindaddig a képernyőn marad, amíg az Esc billentyűt le nem nyomjuk.



30. ábra Kéttagú exponenciális kifejezéssel illesztett mérési pontok

5.3.2.8./ Kilépés a CURVEFIT programból

A kilépés ugyanúgy valósítható meg, mint a TEK2230a akciós potenciál kiértékelő program esetében. Egyszerűen álljunk rá a "Quit" menüpontra és nyomjuk meg az ENTER billentyűt.

6./ EGYÉB FELHASZNÁLT PROGRAMOK

- a./ SS 1.0
(Statistical data analysis and design service, 1985):
Variancia analízis
Neuman-Keuls próba
Scheffe-próba
- b./ T-EASE
(Wold, I., Ehlin, C., és Pittore, B.; Summit software technology Inc., 1984, 1985, 1986):
egy- és két-mintás Student-t teszt
- c./ N-FIT
(The University of Texas, Medical Branch at Galveston; 1990)
egyváltozós, nem-lineáris görbeillesztés
- d./ PERSONAL EDITOR 2.0
ASCII karakteres adatállományok összeszerkesztése
- e./ HARVARD-GRAPHICS 1.0
ábrakészítés

7./ NAFTOPIDIL, VERAPAMIL és DILTIAZEM Ca-antagonista hatásának összehasonlító elemzése "lassú válasz" kísérletekben

Az újonnan kifejlesztett antihipertenzív szer, a NAFTOPIDIL {4-(o-metoxifenil) α -[(1-naftiloxi)metil]-1-piperazin etanol} [116], blokkolja az α_1 -adrenoreceptorokat [117] és gátolja a feszültségfüggő Ca-csatornákon keresztül megvalósuló Ca^{2+} influxot [118] vaszkuláris simaizomban és miokardiumban. Minthogy miokardium esetében kevés, nem-voltage-clamp körülmények között nyert kvantitatív adat áll rendelkezésre a Ca-antagonista hatás mértékére vonatkozóan, célszerűnek tűnt - VERAPAMIL-lal és DILTIAZEM-mel összehasonlítva - analizálni a vegyület L-típusú Ca-csatornák mediálta akciós potenciálokra ("lassú válasz"; ld. 4.3. pontot) kifejtett hatását.

7.1./ Módszer

A mindkét nembeli fiatal, 1800-1900 g súlyú nyulak jobb pitvari trabekuláiból készített preparátumokat 32 °C hőmérsékletű, (95% O_2 + 5% CO_2) összetételű gázeleggyel ekvilibrált, 7.4-es pH-jú módosított Locke-oldattal (összetétel mM-ban: NaCl 128.30, KCl 4.02, NaHCO_3 20.24, CaCl_2 2.00, d-glükóz 10.10) átáramoltatott szervfürdőben rögzítettük és a kísérlet megkezdése előtt - folyamatos elektromos stimulálás mellett (bipoláris platina elektródon keresztül alkalmazott 2-szeres küszöbintenzitású, 2 ms időtartamú, 1 Hz frekvenciájú négyzet-impulzusok) 1 órán keresztül stabilizálódni hagytuk. A beállási idő letelte után, amennyiben az Ag-AgCl elektródon keresztül csatolt, 3 M-os KCl-oldattal töltött üveg mikroelektród legalább 15 percig ugyanazon szívizom sejtben maradt,

[116] Inn, R.,: NAFTOPIDIL. *Drugs Future* 12-1:31 (1987)

[117] 1./ Metzenauer, P., és Borbe, H., O.,: Characterization of naftopidil as a novel alpha-agonist. *Arch. Pharmacol.* 342-S:R26 (1990); 2./ Muramatsu, I., Yamanaka, K., és Kigoshi, S.,: Pharmacological profile of the novel α -adrenoreceptor antagonist KT-611 (Naftopidil). *Jap. J. Pharmacol.* 55:391 (1991)

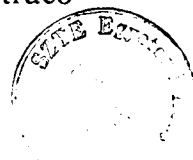
[118] 1./ Himmel, H., M., Glossmann, H., és Ravens, U.,: Naftopidil a new α -adrenoceptor blocking agent with calcium antagonistic properties: Characterization of Ca^{2+} antagonistic effects. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 17:213 (1991); 2./ Grundke, M., Himmel, H., M., Wetter, E., Borbe, H., O., és Ravens, U.,: Characterization of Ca^{2+} -antagonistic effects of three metabolites of the new antihipertenzive agent naftopidil (naphthyl)-hydroxy-naftopidil, (phenyl)hydroxy-naftopidil and o-desmethyl-naftopidil. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 18:918 (1991)

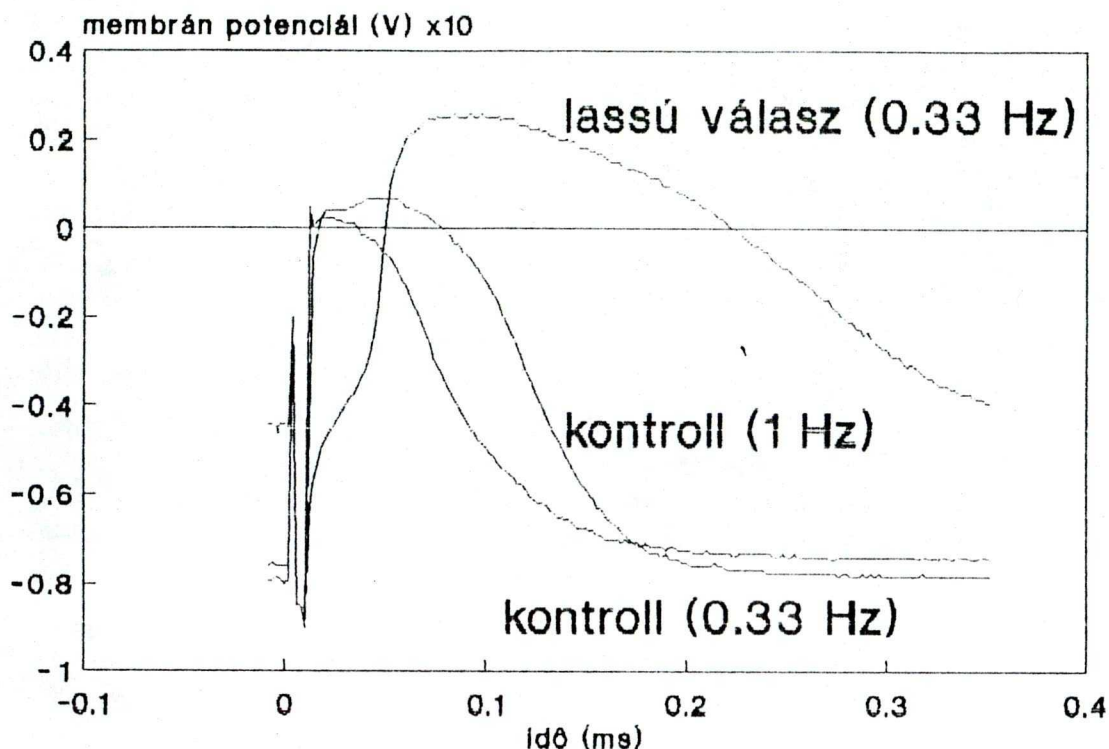
a stimulus-frekvenciát 0.33 Hz-re csökkentettük és a membránpotenciált, a médium K^+ koncentrációjának fokozatos emelésével, -45 - -50 mV közé állítottuk. Ezen depolarizált membránpotenciál szinten a trabekulák praktikusán ingerelhetetlenekké váltak (é.i.: regeneratív, tovaterjedő akciós potenciálokat még 5-szörös küszöb-intenzitású impulzusokkal sem tudtunk kiváltani). A szervfürdőhöz megfelelő töménységű $BaCl_2$ törzsoldat 0.7 mM-os végkoncentrációt biztosító kicsiny alikvotját adva a membránpotenciál további 4-5 mV-tal csökkent (depolarizálódott) és - 2 percen belül - jellegzetes Ca^{2+} -dependens akciós potenciálok jelentkeztek (31. ábra). Ezután, további 30-perces inkubációs periódust követően, kumulatív NAFTOPIDIL, VERAPAMIL vagy DILTIAZEM, koncentráció - hatás görbét vettünk fel. Az egyes koncentráció-lépcsők időtartama, függetlenül az alkalmazott szertől, egységesen 20 perc volt (előkísérletekben meghatározott érték; mindhárom hatóanyag esetében elegendő ahhoz, hogy a steady-state szerhatás kifejlődjön).

A mikroelektródok segítségével nyert feszültség-jeleket, 10-szeres erősítés (ELTRON elektrofiziológiai erősítő) és digitális tároló oszcilloszkóppal (TEKTRONIX 2230) megvalósított digitalizálás után az általunk kifejlesztett kiértékelő programmal (ld. 5.2./ pontot) *on-line* kiértékeljük és a vonatkozó ASCII *adatfile-okat* - a demonstratív ábrák majdani elkészítése valamint a későbbi statisztikai elemzés érdekében - mágneslemezen tároltuk. A dózis-hatás görbéket a "lassú válasz" 1.) maximális depolarizációs sebességében, 2.) amplitúdójában és 3.) 50%-os repolarizációs szintnél mért időtartamában észlelt változások alapján, mindkét tengelyre nézve lineáris koordináta rendszert alkalmazva, állítottuk elő. A szerhatások összevetéséhez (a VERAPAMIL-hoz viszonyított relatív aktivitások kiszámításához) használt IC_{50} értékeket a megfelelő összevont dózis-hatás görbe adatok (mindhárom szer esetében 5-5 kísérlet eredményei együttesen) alábbi kifejezés szerinti nem-lineáris illesztéséből (CURVEFIT program; ld.: 5.3./ pontot) nyertük:

$$P([D]) = \frac{A_{max} * [D]}{IC_{50} + [D]} + A_0$$

ahol:	[D]:	a hatóanyag koncentráció
	$P[D]$:	a vizsgált "lassú válasz" paraméter értéke [D] jelenlétében
	A_{max} :	a végtelen [D]-re extrapolált paraméter-változás
	A_0 :	az adott paraméter értéke végtelen [D] jelenlétében
	IC_{50} :	a fél-maximális paraméter-változást ($A_{max}/2$) indukáló hatóanyag koncentráció

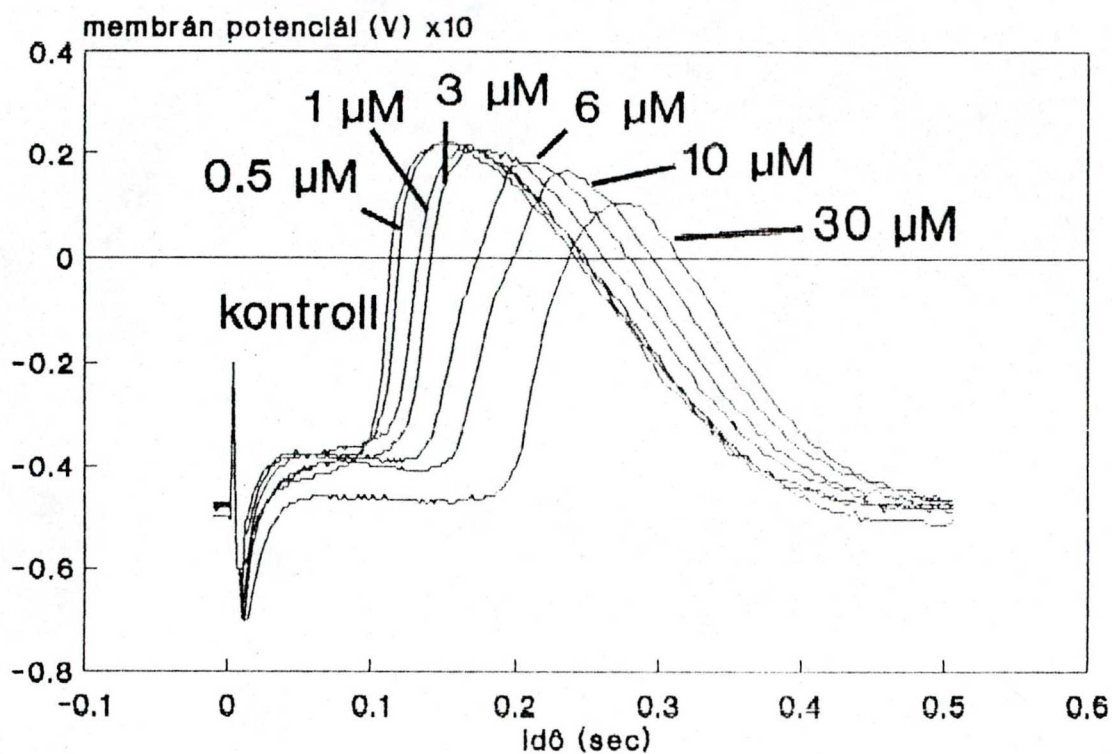




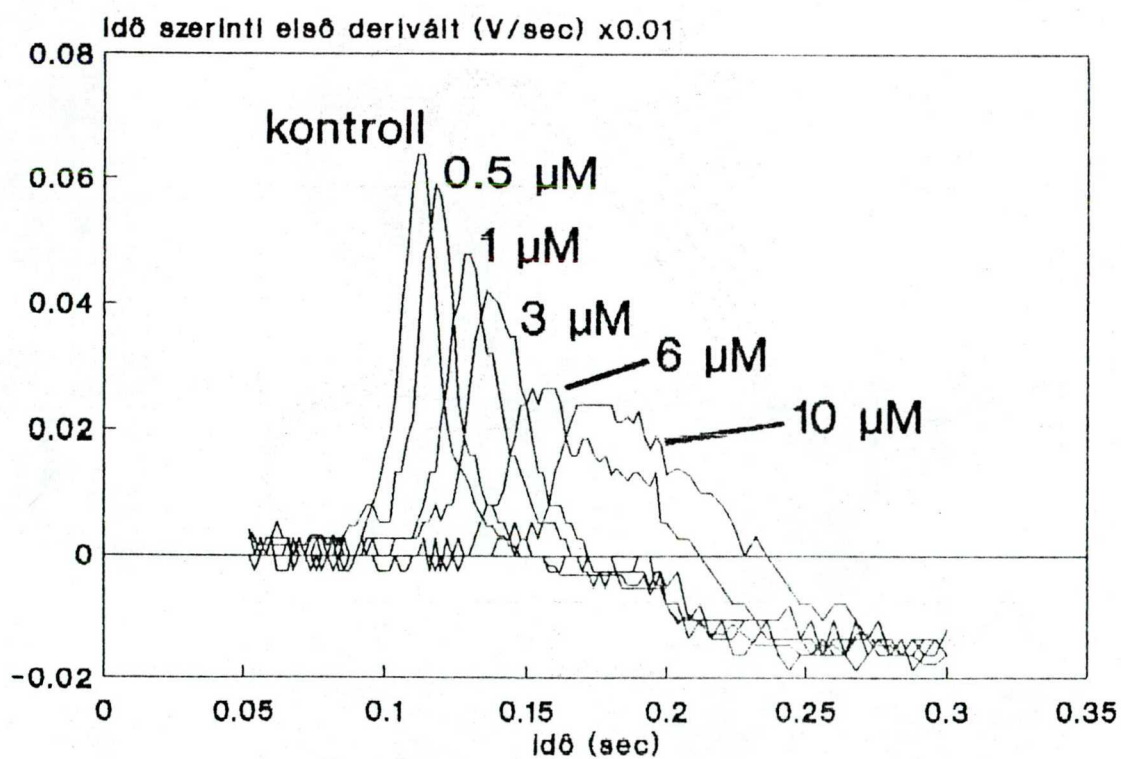
31. ábra "Lassú válasz" kiváltása BaCl₂-dal nyúl pitvari miokardiumban

7.2./ Eredmények

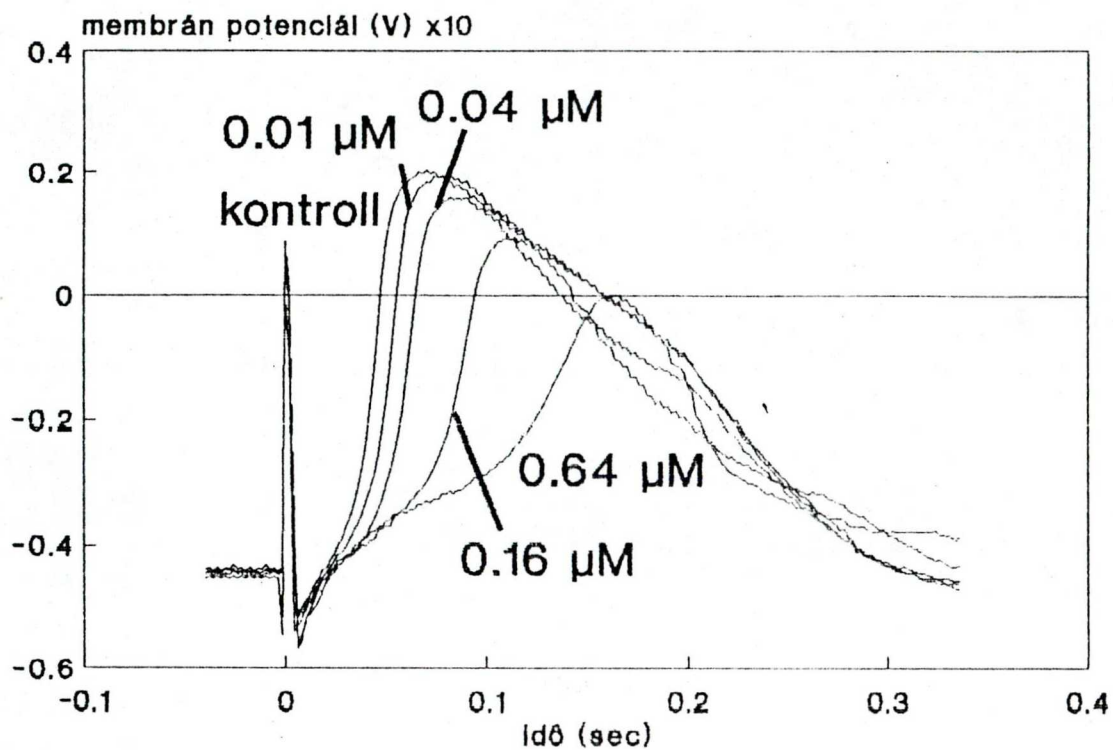
A vizsgált hatóanyagok koncentráció-függő módon deprimálták a Ba²⁺-indukált lassú akciós potenciálokat (32. - 37. ábrák). A Ca-antagonista hatás szempontjából a legérzékenyebb paraméternek a depolarizáció maximális sebessége bizonyult (a vonatkozó, IC₅₀ értékek: NAFTOPIDIL 1.52 ± 0.29 μM, VERAPAMIL 0.39 ± 0.05 μM, DILTIAZEM 0.07 μM; 38. - 40. ábrák). Ehhez viszonyítva a "lassú válasz"-amplitúdót (é.i.: kiszámítva IC₅₀[amplitúdó]/IC₅₀[dV/dt_{max}] hányadosokat) a NAFTOPIDIL 11.2-szer (IC₅₀: 16.98 ± 1.51 μM), a VERAPAMIL 2.5-ször (IC₅₀: 0.99 ± 0.1 μM), a DILTIAZEM pedig 1.7-szer (IC₅₀: 0.12 ± 0.02 μM) kisebb aktivitással csökkentette (41. - 43. ábrák). A "lassú válasz"-időtartamot követve NAFTOPIDIL-re 9.78 ± 3.56 μM-os, VERAPAMIL-ra 0.26 ± 0.03 μM-os és DILTIAZEM-re 0.19 ± 0.02 μM-os IC₅₀ értékeket kaptunk (44. - 46. ábrák)



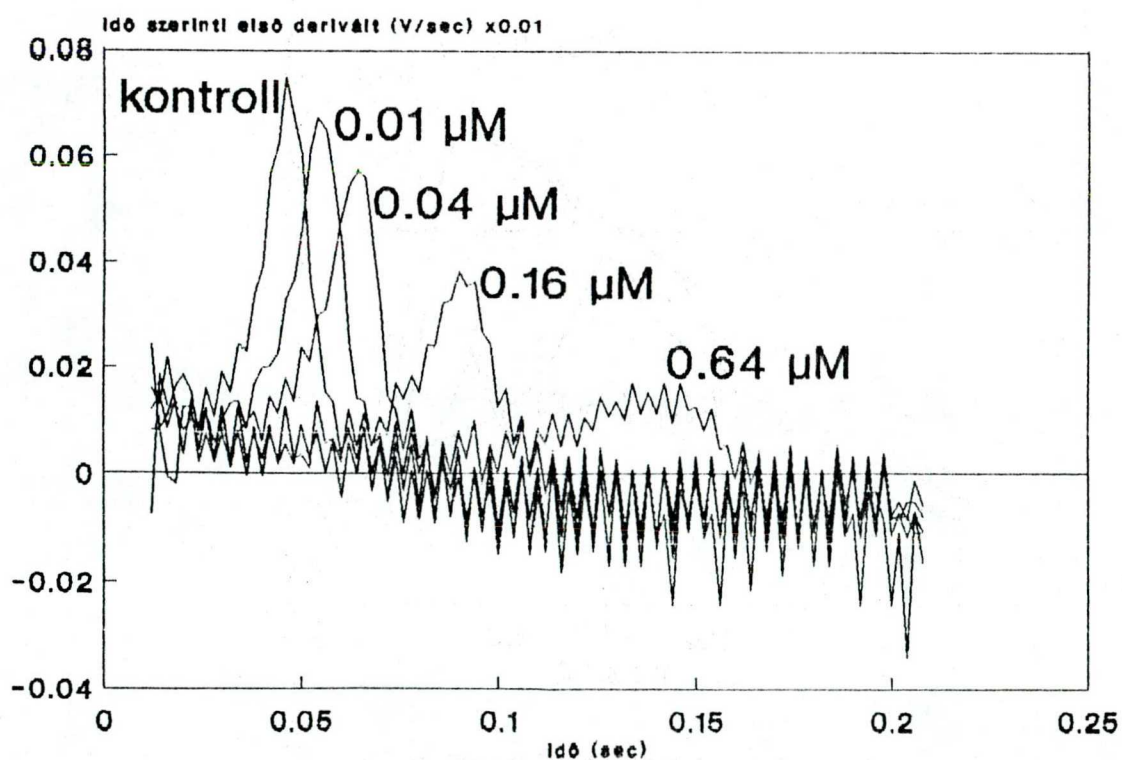
32. ábra NAFTOPIDIL hatása a "lassú válasz"-ra pitvari miokardiumban



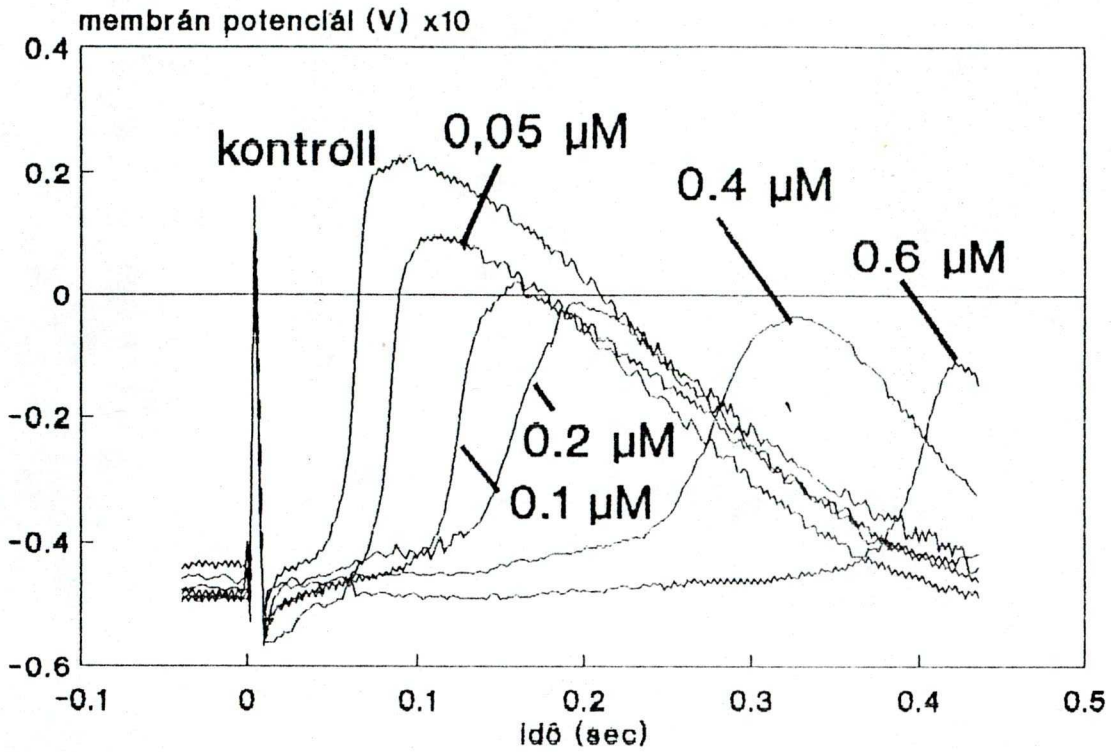
33. ábra NAFTOPIDIL hatása a Ba^{2+} -indukált akciós potenciálok idő szerinti első deriváltjára



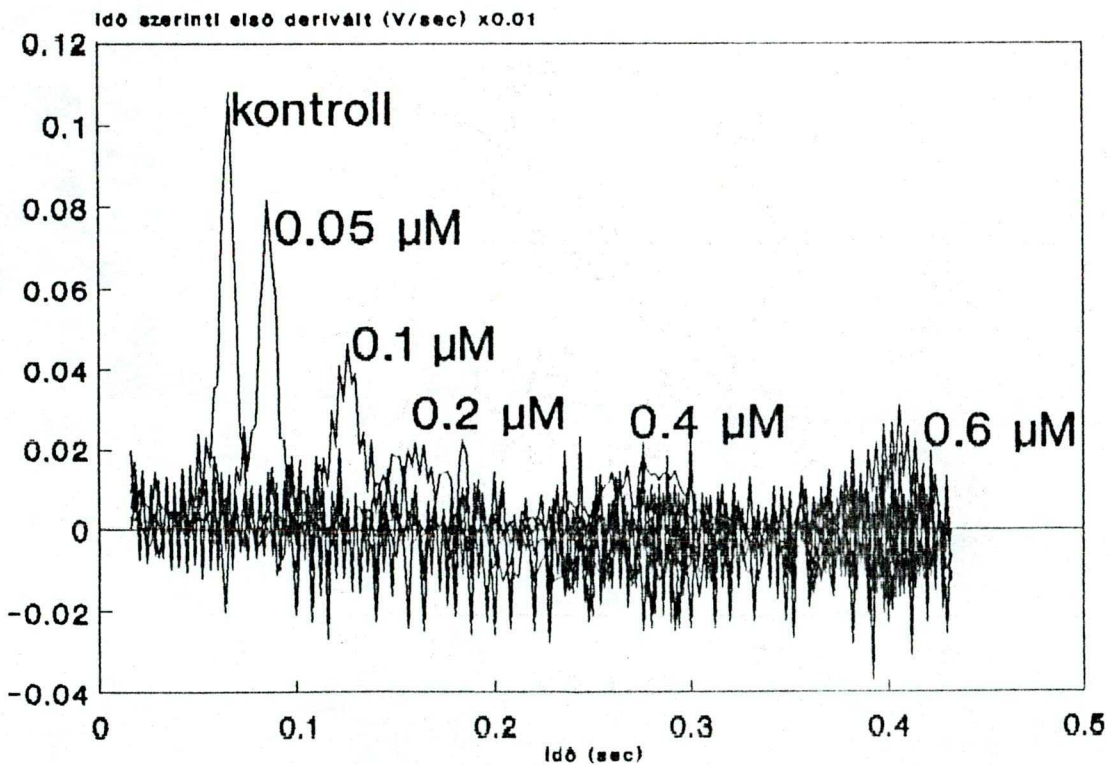
34. ábra VERAPAMIL hatása a "lassú válasz"-ra pitvari miokardiumban



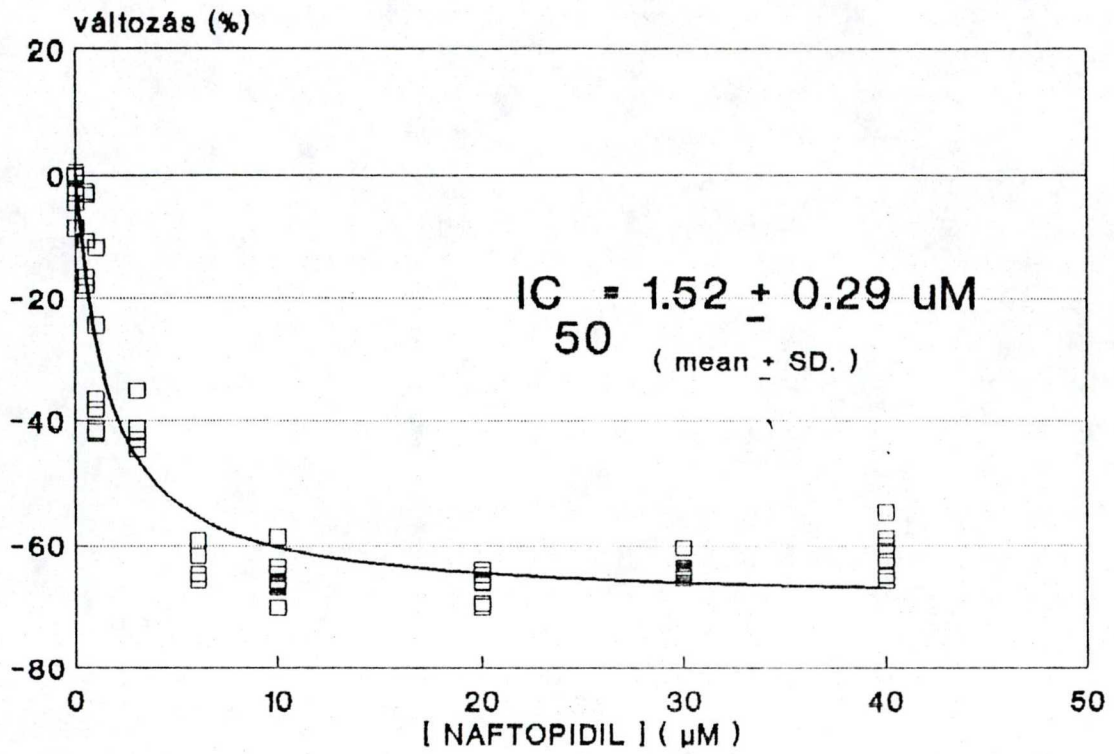
35. ábra VERAPAMIL hatása a Ba^{2+} -indukált akciós potenciálok idő szerinti első deriváltjára



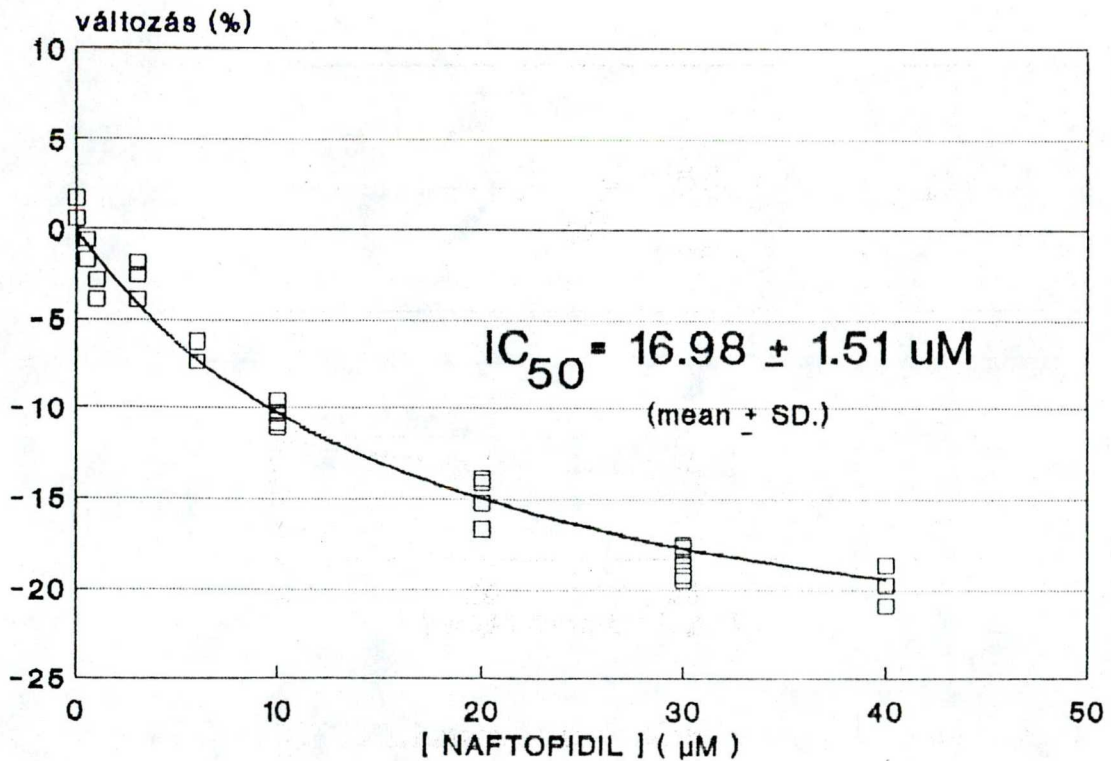
36. ábra DILTIAZEM hatása a "lassú válasz"-ra pitvari miokardiumban



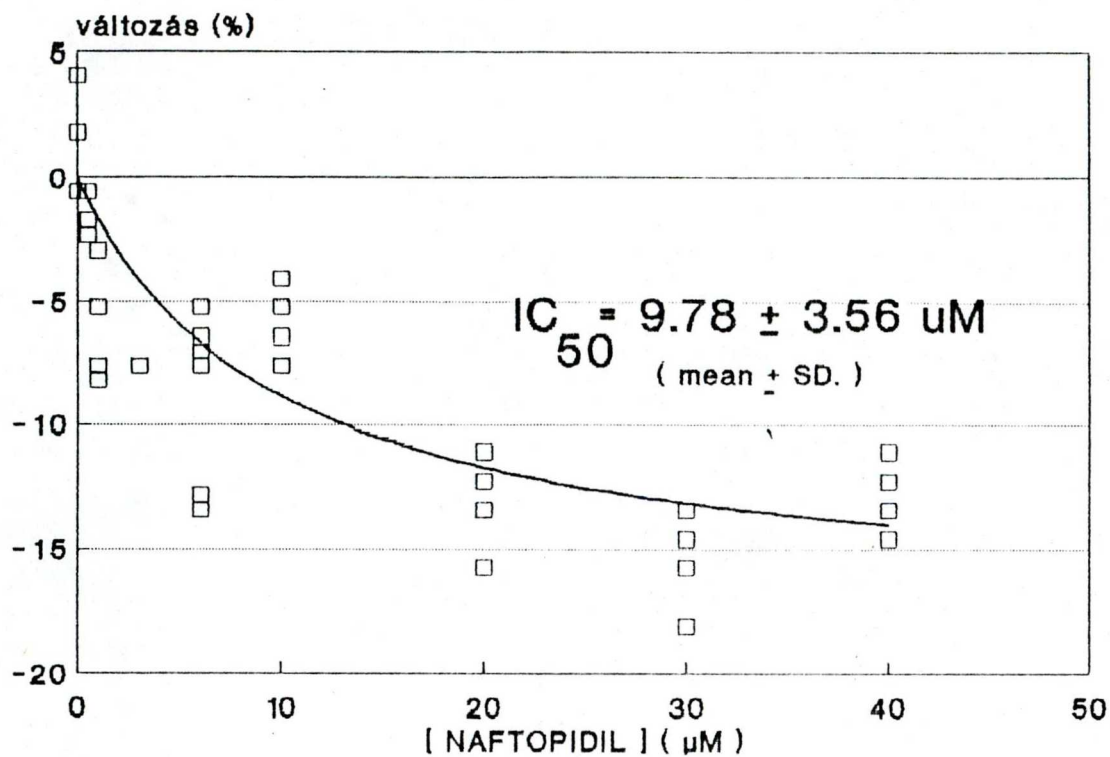
37. ábra DILTIAZEM hatása a Ba^{2+} -indukált akciós potenciálok idő szerinti első deriváltjára



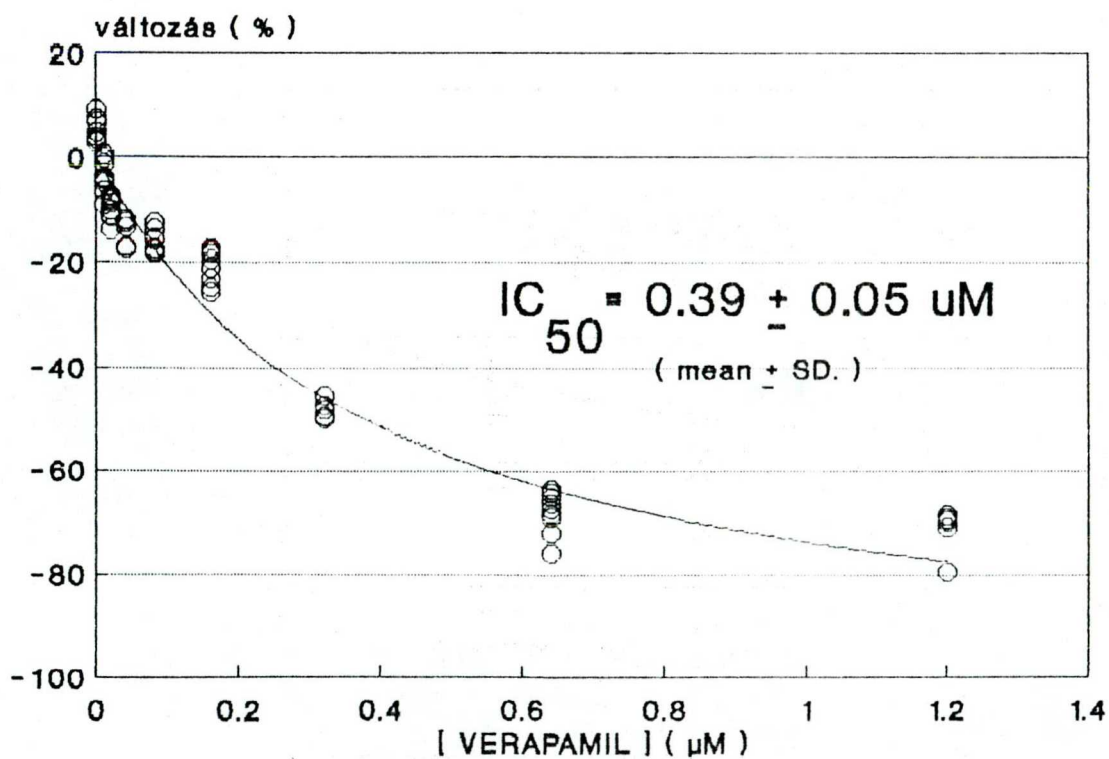
38. ábra NAFTOPIDIL hatása a "lassú válasz" maximális depolarizációs sebességére



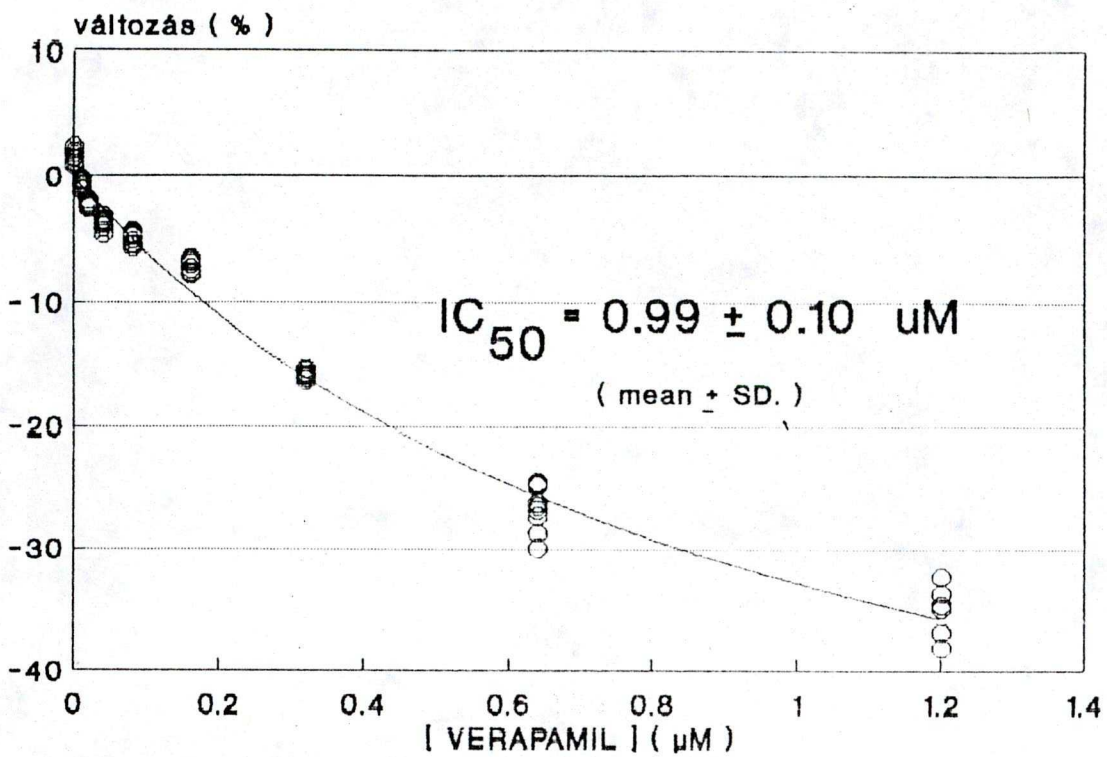
39. ábra NAFTOPIDIL hatása a "lassú válasz" amplitúdójára



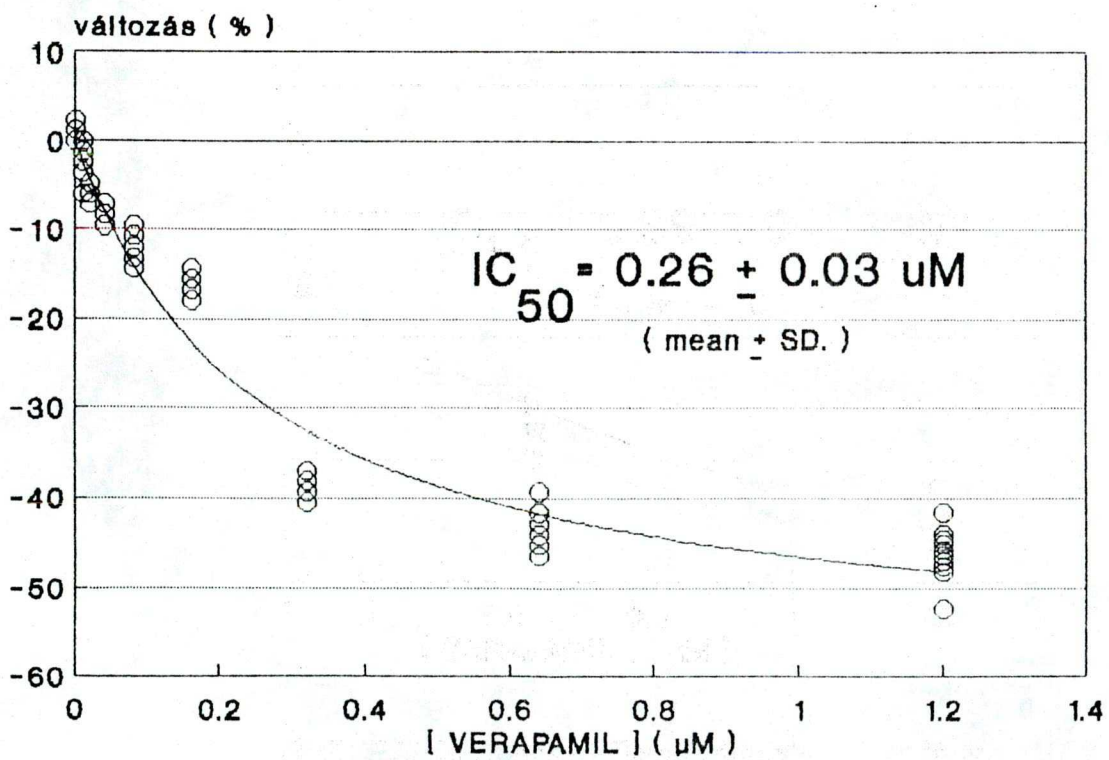
40. ábra NAFTOPIDIL hatása a "lassú válasz" időtartamára



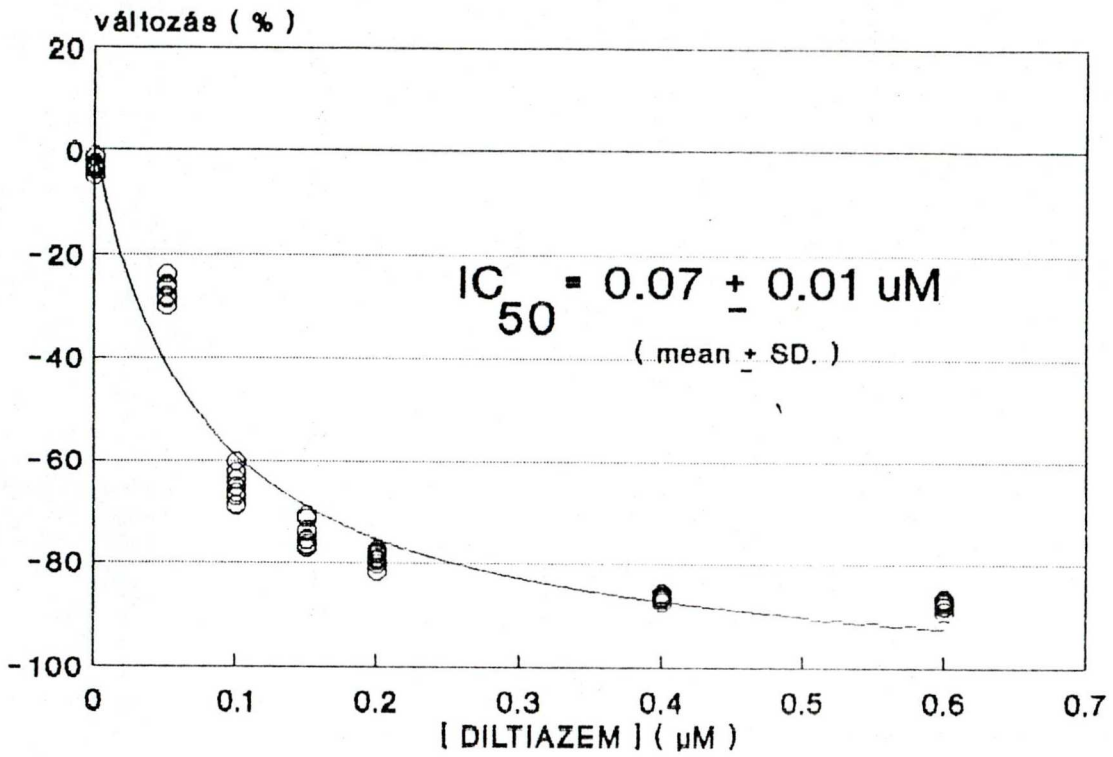
41. ábra VERAPAMIL hatása a "lassú válasz" maximális depolarizációs sebességére



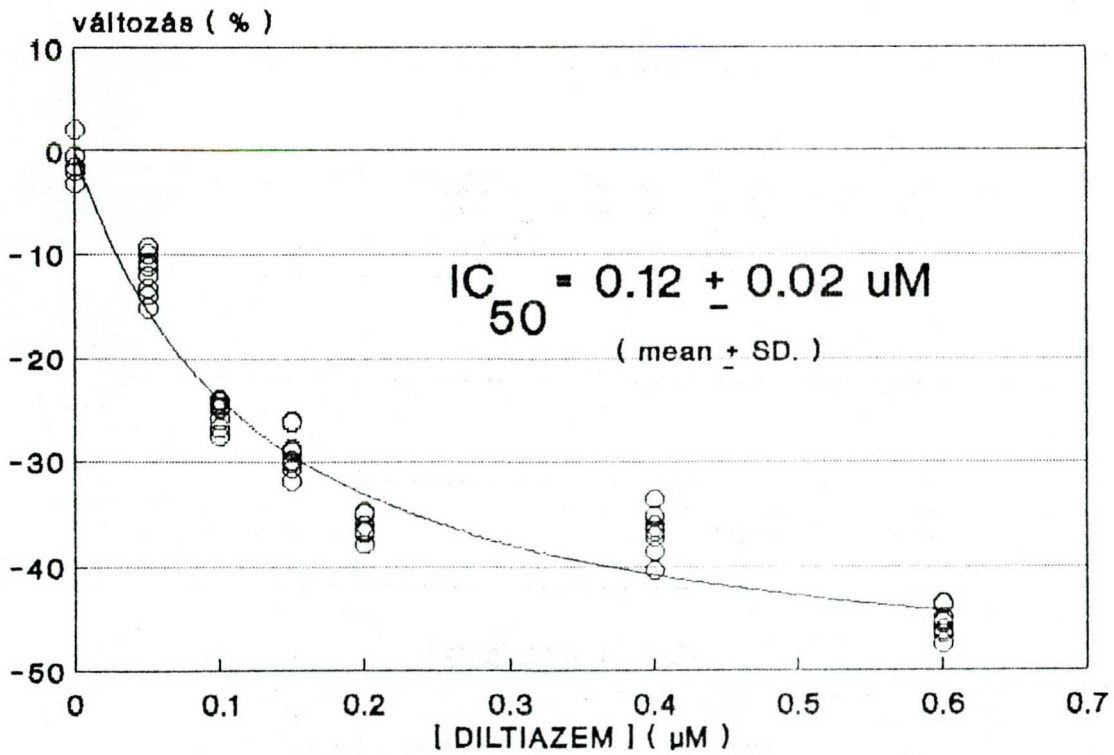
42. ábra VERAPAMIL hatása a "lassú válasz" amplitúdójára



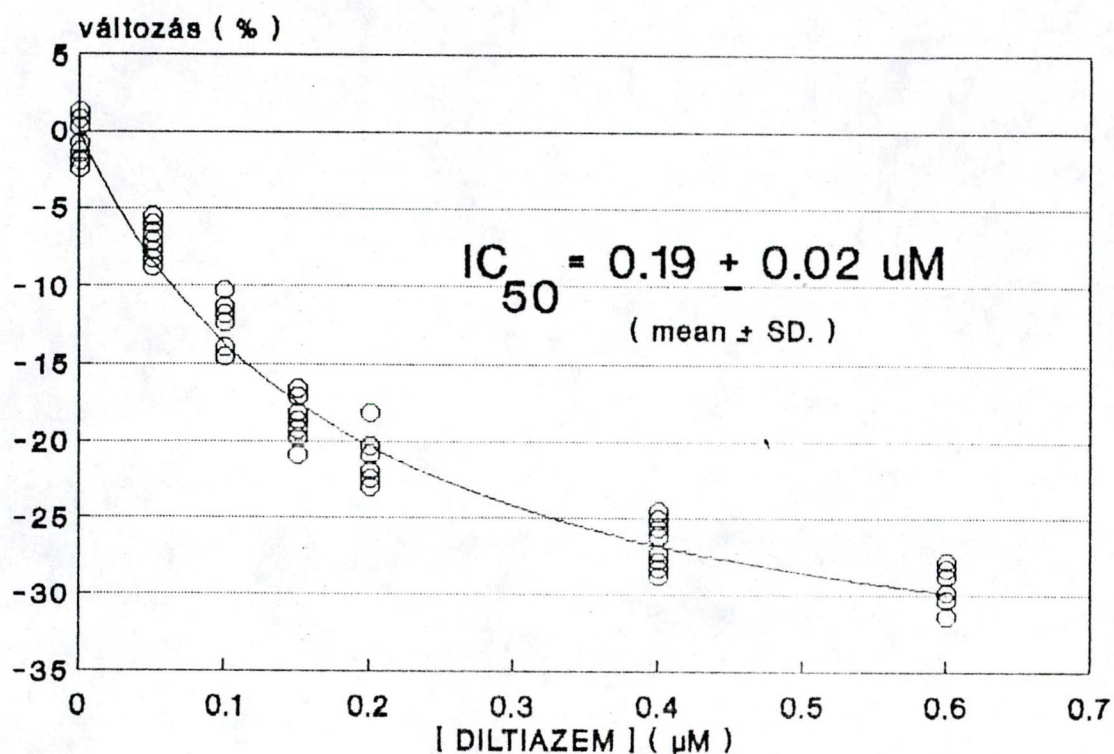
43. ábra VERAPAMIL hatása a "lassú válasz" időtartamára



44. ábra DILTIAZEM hatása a "lassú válasz" maximális depolarizációs sebességére



45. ábra DILTIAZEM hatása a "lassú válasz" amplitúdójára



46. ábra DILTIAZEM hatása a "lassú válasz" időtartamára

8. TÁBLÁZAT

A vizsgált vegyületek VERAPAMIL-hoz viszonyított relatív Ca-antagonista aktivitása

"lassú válasz" paraméter	NAFTOPIDIL	VERAPAMIL	DILTIAZEM
dV/dt _{max}	0.257	1	5.57
amplitúdó	0.058	1	8.25
időtartam	0.027	1	1.37

7.3./ Megbeszélés

Ca^{2+} - mediált akciós potenciálok kiváltásához mindenképp inaktíválnunk kell a gyors Na-áramot. Ez legegyszerűbben (a konvencionális mikroelektród-technika körülményei között) a médium K^+ -koncentrációnak emelésével érhető el. Magasabb extracelluláris K^+ -koncentrációk jelenlétében ugyanis a membránpotenciál depolarizáltabb lesz (ld.: 4.1./ pontot) és így, a steady-state inaktiváció mértékét meghatározó összefüggésnek megfelelően (ld.: 4.2./ pontot) az aktiváció (elektromos stimulus) kisebb gyors Na-csatorna hányadot fog működésbe hozni. Azon körülmény, hogy az általunk alkalmazott, átlagosan 18 mM-os extracelluláris K^+ -koncentráció jelenlétében mért -45 mV-os membránpotenciál-szint mellett még 5-szörös küszöb-intenzitású négyszög impulzusokkal sem sikerült akciós potenciálokot kiváltani azt jelzi, hogy az összes gyors Na-csatornát hatékonyan blokkoltuk. A -45 mV-os membránpotenciál-szint ugyanakkor a T-típusú Ca-csatornák működési tartománya felett van ([77], [78], [80]). Így magától megoldódik a T- és L-típusú Ca-csatornák szeparálása is (é.i.: a kiváltott "lassú akciós potenciálokot" kizárólag L-Ca-csatornák fogják mediálni; ld.: 4.3./ pontot). Az egyébként gyenge L-Ca-áram jól mérhető tartományba erősítése Ba^{2+} hozzáadásával számos előnnyel jár:

1.) Ba^{2+} jelenlétében a T-Ca-áram nem változik, míg az L-Ca-áram általában csaknem 2-szeresére nő ([78], [79]).

2.) A Ba^{2+} már 10 - 100 μM -os koncentrációban is hatékonyan blokkolja a repolarizáló K^+ áramokat és így azok nem fogják "szennyezni" az amplitúdó és időtartam méréseket. Ezen utóbbi vonatkozásban érdemes emlékeznünk arra, hogy az intracelluláris Ca^{2+} -szint és némely K^+ -áram aktivitása szoros kapcsolatban áll egymással ([101], [105]; ld. 4.5./ pontot). Ha nem kapcsoljuk ki például a Ca^{2+} aktivált K^+ -áramot és az extracelluláris Ca^{2+} -koncentrációk "lassú válasz" időtartamra gyakorolt hatását tanulmányozzuk, nagy valószínűséggel hamis eredményeket fogunk kapni. A vonatkozó dózis-hatás görbe letörési pontja ilyen esetben nem a lassú Ca-áram Ca^{2+} -indukálta gátlását [84], hanem inkább az $\text{IK}(\text{Ca})$ beindulását [105] fogja jelezni.

3.) Depolarizált membránpotenciál szinteknél - emelt extracelluláris Ca^{2+} -koncentrációk jelenlétében - valamilyen, cAMP mobilizáló receptort aktiváló hatóanyag (noradrenalin, izoproterenol, hisztamin) hozzáadásával is kiválthatunk

"lassú válasz"-t ([85], [86], [119]). A transzmembrán Ca^{2+} -grádiens növekedése miatt megemelkedő intracelluláris Ca^{2+} -koncentráció és a magas cAMP-szint azonban nemcsak a Ca-áramot fogja megnövelni, de - Ca-CALMODULIN és cAMP-dependens kináz reakciókon keresztül [120] - számos más, a celluláris Ca^{2+} -homeosztázisban szerepet játszó funkciót is módosítani fog (Ca^{2+} -indukált Ca^{2+} -release a szarkoplazmatikus retikulumból [6], Ca^{2+} -szekvesztráció a retikuláris térbe [121], Ca^{2+} -pumpa aktivitás [59]). Következésképpen, az így kiváltott "lassú válasz" meglehetősen instabil valamivé válik és használatával, megbízhatóan, csupán "IGEN-NEM" jellegű információk nyerhetők (é.i.: az adott szer kioltja-e a "lassú válasz"-t vagy sem; [122]).

Eredményeink alapján a NAFTOPIDIL nyilvánvaló Ca^{2+} -antagonista aktivitással rendelkezik (é.i.: koncentráció-dependens módon gátolja az L-Ca-csatornákat). Ezen vonatkozásban a szer - a legérzékenyebb "lassú válasz" paramétert, a maximális depolarizációs sebességet tekintve - a VERAPAMIL-nál megközelítően 4-szer, a DILTIAZEM-nél viszont majd 22-szer gyengébb (8. TÁBLÁZAT). Az, hogy kísérleteinkben a DILTIAZEM 5-ször hatékonyabb volt a VERAPAMIL-nál - jóllehet a két szer hatáserősségét miocitákon általában közel azonosnak tartják [123] - részben talán annak tulajdonítható, hogy a Ba^{2+} -indukált "lassú válasz" alatt jelentős $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődési áram folyik és a DILTIAZEM, szemben a VERAPAMIL-lal ezen áramkomponenst is gátolja [124]. (Azon kérdés tisztázása, hogy a NAFTOPIDIL hat-e a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -

[119] 1./ Reuter, H.,: Modulation of ion channels by phosphorylation and second messengers. NIPS. 2/October: 68 (1987); 2./ Neer, E., J., és Clapham, D., E.,: Signal transduction through G proteins in the cardiac myocyte. TCM. 2/1:6 (1992)

[120] Rasmussen, H.,: The calcium messenger system. New England. J. Med.: May 1:1164 (1986)

[121] Katz, M., A.,: Calcium fluxes across the sarcoplasmic reticulum. in: Opie, L., H., (Szerk.) Calcium antagonists and cardiovascular disease. Raven Press, New York (1984)

[122] 1./ Sperelakis, N.,: Cyclic AMP and phosphorylation in regulation of Ca^{++} influx into myocardial cells and blockade by calcium antagonistic drugs. Am. Heart. J. February:347 (1984) 2./ Molyvdas P., A., James F., W., és Sperelakis, N.,: Azelastine effects on electrical and mechanical activities of guinea pig papillary muscles. Eur. J. Pharmacol. 164:547 (1989)

[123] 1./ Lee, K., S., és Tsien, R., W.,: Mechanism of calcium channel blockade by verapamil, D600, diltiazem és nitrendipine in single dialyzed heart cells. Nature 297:498 (1983) 2./ Nayler, W., G.,: Calcium antagonists. Academic Press. London, San Diego, New York, Berkely (1988)

[124] Matlib, M., Lee, S., W., Depover, A., és Schwartz, A.,: A specific inhibitory action of benzothiazepines and benzodiazepines on the sodium-calcium exchange process of heart and brain mitochondria. Eur. J. Pharmacol. 89:327 (1983)

kicserélődési transzportra, további vizsgálatokat igényel.) Másrésztől valószínűbb, hogy a jelenség pusztán annak következménye, hogy a DILTIAZEM-indukált L-Ca-csatorna blokk a VERAPAMIL-indukáltnál nagyobb mértékben függ a membránfeszültségtől [125].

[125] Tung, L., és Morad, M.: Voltage- and frequency-dependent block of diltiazem on the slow inward current in frog ventricular muscle. *Pflügers Arch.* 398:189 (1983)

8./ A KC-4965 jelzésű vegyület frekvencia-függő dV/dt_{max} gátlásának vizsgálata izolált nyúlszív preparátumokon

A KC-4965 jelzésű vegyületet 1987-ben szintetizálták a Kalichemie AG gyógyszervegyészeti részlegében. Az extracelluláris elektrofiziológiai módszerekkel, más munkahelyeken végzett szűrővizsgálatok adatai alapján kiderült, hogy a szer preferenciálisan blokkolja a miokardiális gyors Na-csatorna funkciót. Mind elméleti, mind a további fejlesztést meghatározó gyakorlati szempontból kívánatosnak látszott a hatóanyag-indukált transzmembrán potenciál változások finomabb (intracelluláris mikroelektród technikával történő) elemzése ill. a Na-csatorna hatás mechanizmusának tisztázása. Célul tűztük ki továbbá, hogy a tervezett kísérletek elvégzésével birtokunkba jutó adatok alapján meghatározzuk a Na-csatorna blokkoló antiaritmiás szerek azon alosztályát, ahova a KC-4965 is tartozik.

8.1./ Módszerek

A mindkét nembeli, 1000-1500 g súlyú nyulakból nyert pitvari munkaizomzat és jobb kamrai papilláris izom preparátumokat 32 °C hőmérsékletű, (95% O₂ + 5% CO₂) összetételű gázeleggyel ekvilibrált, 7.4-es pH-jú módosított Locke-oldattal átáramoltatott (összetétel mM-ban: Na⁺ 140, K⁺ 5.63, Ca²⁺ 2.17, Cl⁻ 125, HCO₃⁻ 25 és d-glükóz 11) szervfürdőben rögzítettük és - a kísérlet megkezdése előtt - folyamatos elektromos hajtás mellett (kétszeres küszöberősségű, 1 ms időtartamú, 1.66 Hz frekvenciájú pontszerűen alkalmazott négyszögimpulzusok) egy órán keresztül stabilizálódni hagytuk.

1.) *Transzmembrán potenciál mérés*

A pitvari és kamrai transzmembrán potenciálokat 3M-os KCl- oldattal töltött, 15-20 MOhm ellenállású üveg ("Pyrex", JENCONS) mikroelektródokkal vezettük el. A jeleket 10-szeres erősítés (MIKI-1623D biológiai erősítő) ill. elektronikus differenciálás (MIKI-2015C differenciáló egység) után kétsugaras digitális tároló oszcilloszkópba (TEKTRONIX 2230) vezettük. A transzmembrán potenciál paraméterek numerikus értékeit az oszcilloszkóphoz RS-232 interface-szel kapcsolt IBM-AT kompatibilis személyi számítógépen futtatott TEK2230A kiértékelő programmal állítottuk elő (ld.: 5.2./ pontot). További analízisre csak

azon esetekben került sor, ahol a mikroelektród a kísérlet teljes időtartamán keresztül ugyanazon miocitában maradt.

2.) A gyors Na-csatorna inaktivációból történő helyreállításának vizsgálata

A fenti experimentális körülmények között, 1 Hz-es alap stimulációs frekvenciát alkalmazva, minden 10-dik reguláris impulzus után (S₁), fokozatosan növekvő csatolási idővel (CT) extra akciós potenciálokat (S₂) váltottunk ki és azzal a megközelítéssel élünk, hogy az ilyen módon előálló $dV/dt_{\max}(S_2)/dV/dt_{\max}(S_1) - CT$ függvény hűen tükrözi a gyors Na-csatorna restitúciót (ld.: 4.2./ pontot). Az effektív refrakter szak hosszát (ERP) azon legrövidebb CT-vel definiáltuk, amelynél a vonatkozó S₁ hatására extra akciós potenciál még megjelent az oszcilloszkóp képernyőn. Magát a helyreállási folyamatot ezen ERP értékkel továbbá az alábbi összefüggés CURVEFIT programmal végrehajtott illesztése után kapott b kinetikai konstanssal jellemeztük:

$$\frac{dV/dt_{\max}(S_2)}{dV/dt_{\max}(S_1)} = A (1 - e^{-b * (CT - ERP)})$$

3.) A frekvencia-függő dV/dt_{\max} blokk vizsgálata

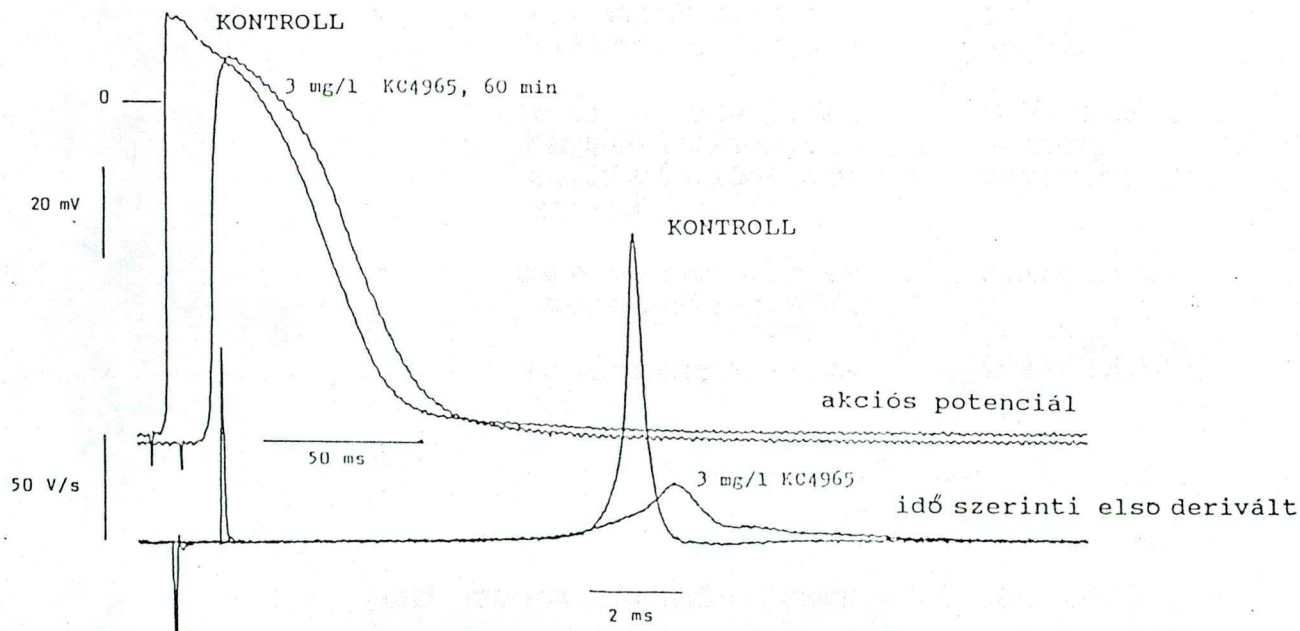
A beállási idő letelte után (ld. a "Transzmembrán potenciál mérés" című bekezdést), 3-5 perces stimuláció-mentes periódusokkal elválasztva, három különböző frekvenciájú (interstimulus intervallumok (ISI): 300, 600 és 1200 ms), legalább 30 beütésből álló impulzussorozatot bocsátottunk a preparátumokra miközben - a TEK2230a kiértékelő program segítségével - regisztráltuk a kiváltott akciós potenciál sorozatokból elektronikus differenciátorral nyert dV/dt_{\max} sorozatokat (kontroll görbék). Ezután 60 perces KC-4965 inkubáció következett 1 Hz-es hajtás mellett, majd megintcsak 300, 600 és 1200 interstimulus-intervallumú impulzussorozatokkal megismételtük az említett dV/dt_{\max} mérési procedúrát (teszt görbék). A kísérlet végén, a megfelelő $dV/dt_{\max}(ISI)$ kontroll és $dV/dt_{\max}(ISI)$ teszt függvényeket egymásból kivonva megkaptuk a hatóanyag-indukált dV/dt_{\max} gátlás kialakulását jellemző összefüggést ($g(t)$) - majd a CURVEFIT programmal, az alábbi formula szerint végrehajtott illesztéssel előállítottuk a vonatkozó b kinetikai konstans:

$$g(t) = A * (1 - e^{-b * t^n}) + C$$

- ahol:
- A :a hatóanyag indukált steady-state dV/dt_{max} blokk az adott stimulációs frekvenciánál
 - C :az un. nyugalmi blokk (azon gyors Na-csatorna hányaddal arányos, amelyről a hatóanyag meglehetősen hosszú stimulációmentes szak alatt sem válik le)
 - n :szemléletesen, a hatóanyag kötőhelyek számát reprezentáló paraméter
 - t :az adott stimulussorozat indulásától számított idő

4.) Statisztikai elemzés

A kontroll és teszt értékek különbözőségének statisztikai értelemben szignifikáns voltát (az előzetesen végrehajtott F-próba eredményétől függően) kétmintás Student-t vagy Welch-próbával állapítottuk meg. Az átlag-értékek eltérését $p \leq 0.05$ szinten tekintettük szignifikánsnak.



47. ábra KC-4965 hatása bal pitvari munkaizomból elvezetett akciós potenciálra

9. TÁBLÁZAT

KC-4965 hatása a transzmembrán potenciál paraméterekre
bal pitvari miokardiumban

Nyugalmi potenciál (mV)	Akciós potenciál amplitúdó (mV)	dV/dt_{max} (V/s)	APD ₁₀ (ms)	APD ₅₀ (ms)	APD ₉₀ (ms)	ERP (ms)
KONTROL						
-73.85 ± 4.51	92.74 ± 5.64	140.67 ± 13.53	19.33 ± 3.34	50.68 ± 6.13	76.45 ± 6.30	93.55 ± 4.84
3 mg/l KC-4965 (inkubációs idő: 60 perc)						
-74.36 ± 3.54	88.52 ± 3.64	30.83 [*] ± 5.52	19.24 ± 4.12	45.48 [*] ± 3.72	77.59 ± 5.83	125.60 [*] ± 3.22
HELYREÁLLÁS (60 perc mosás után)						
-73.65 ± 4.28	89.98 ± 4.82	102.67 [*] ± 10.78	18.22 ± 3.43	47.01 ± 5.52	77.10 ± 4.22	100.72 [*] ± 5.80
átlag ± SD. kísérletszám = 5 * : p ≤ 0.05 (Student-t vagy Welch teszt)						

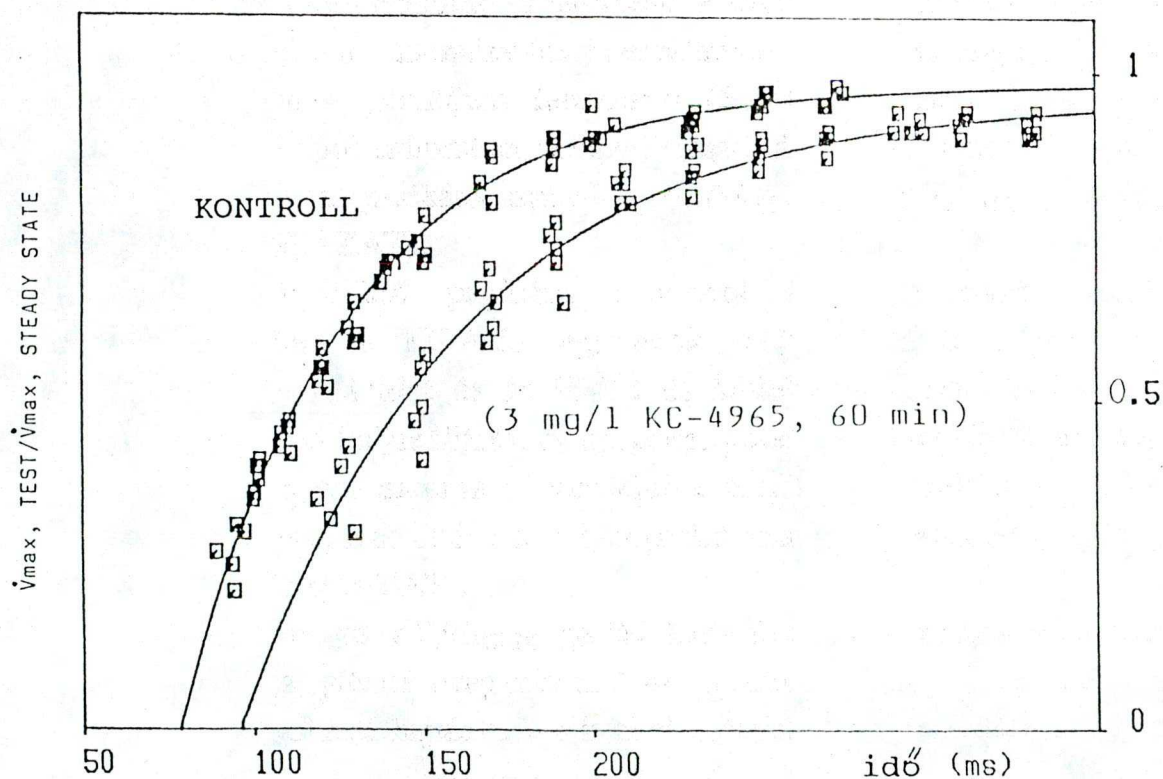
8.2./ Eredmények és következtetések

KC-4965-tel 60 percig inkubált pitvari miokardiumban a depolarizáció maximális sebessége csökken a legerőteljesebben (9. TÁBLÁZAT és 47. ábra). A dV/dt_{max} gátlás a vezetési idő tetemes meghosszabbodásával és az akciós potenciál amplitúdó jelentős csökkenésével társult (47. ábra). A repolarizációs fázist jellemző paraméterek ugyanakkor (a 10, 50 és 90 %-os repolarizációs szinteknél mért akciós potenciál időtartamok: APD₁₀, APD₅₀ és APD₉₀) - a kis mértékben megrövidülő APD₅₀-től eltekintve - nem változtak. Az effektív refrakter szak hossza (ERP) viszont szignifikánsan megnyúlt. A gyors Na-csatorna inaktivációból történő helyreállása ugyan - az ERP növekedésével összhangban - a hosszabb S₂-S₁ időtartamok felé tolódott el, de a kinetikai konstans gyakorlatilag nem változott (48. ábra).

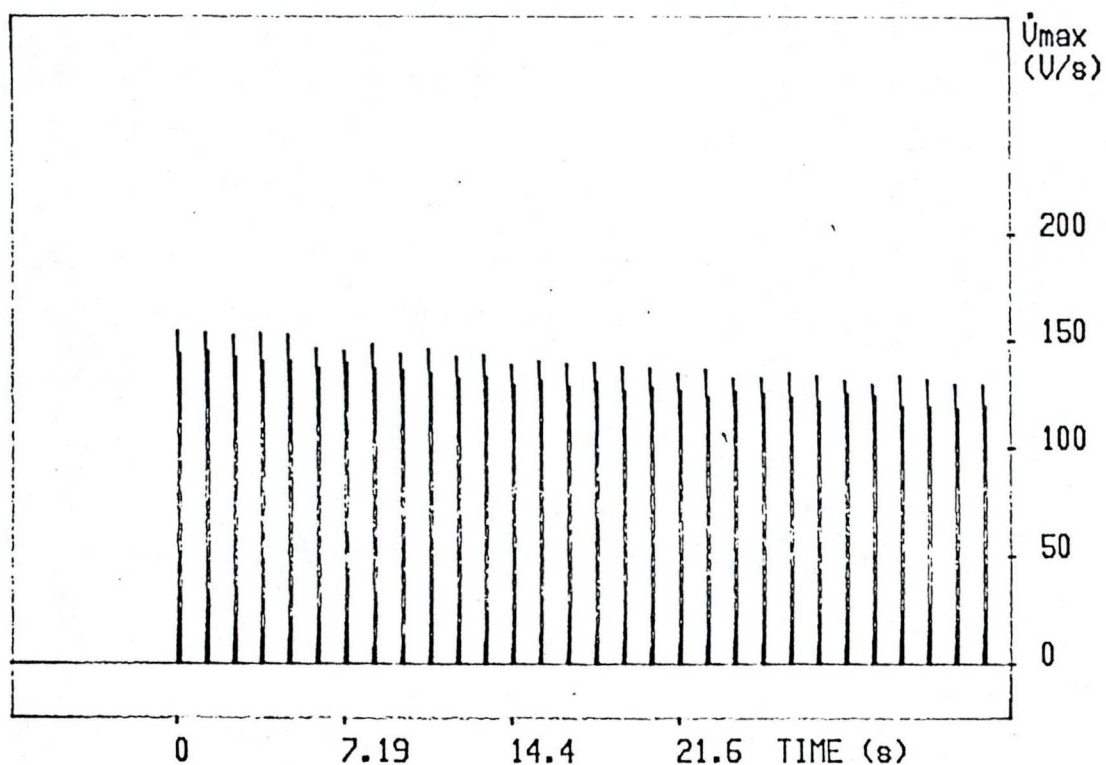
A KC-4965 által kifejtett frekvencia-függő dV/dt_{\max} gátlás kifejlődése 1200 ms-os interstimulus intervallumú impulzussorozatok alkalmazásakor alig volt észlelhető (49. ábra) - az interstimulus intervallumot előbb 600, majd 300 ms-ra csökkentve azonban - jelentősen felgyorsult (50. és 51. ábrák). KC-4965 jelenlétében, pitvari miokardiumban, relatíve hosszú stimuláció mentes periódusok (5 perc) esetén is szignifikáns nyugalmi (idő-független) dV/dt_{\max} blokkot észleltünk (10. TÁBLÁZAT).

Jobb kamrai elülső papilláris izmokból elvezetett transzmembrán potenciálok esetében a KC-4965 ugyancsak csökkentette a dV/dt_{\max} -et, megnyújtotta a vezetési időt és késleltette a gyors Na-csatorna inaktivációból történő helyreállítását. A nyugalmi potenciál, a repolarizációs fázis lefutása és a gyors Na-csatorna inaktivációból történő helyreállási folyamatát jellemző kinetikai konstans értéke azonban praktikusán nem változott (52. és 53. ábra valamint 11. TÁBLÁZAT).

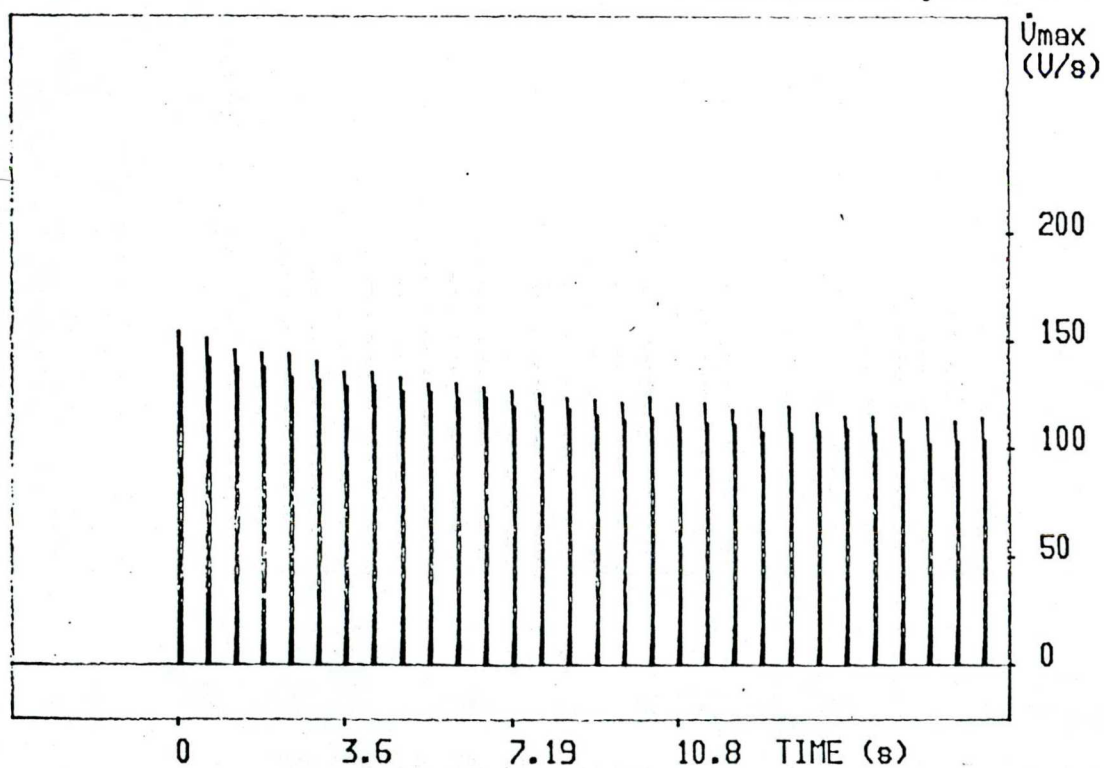
A frekvencia-függő dV/dt_{\max} gátlás kamrai miokardiumban (papilláris izom) - eltérően a pitvari preparátumokon tapasztaltaktól - már 1200 ms interstimulus intervallumú hajtás esetén is kifejezett volt (54., 55. és 56. ábra ill. 12. TÁBLÁZAT).



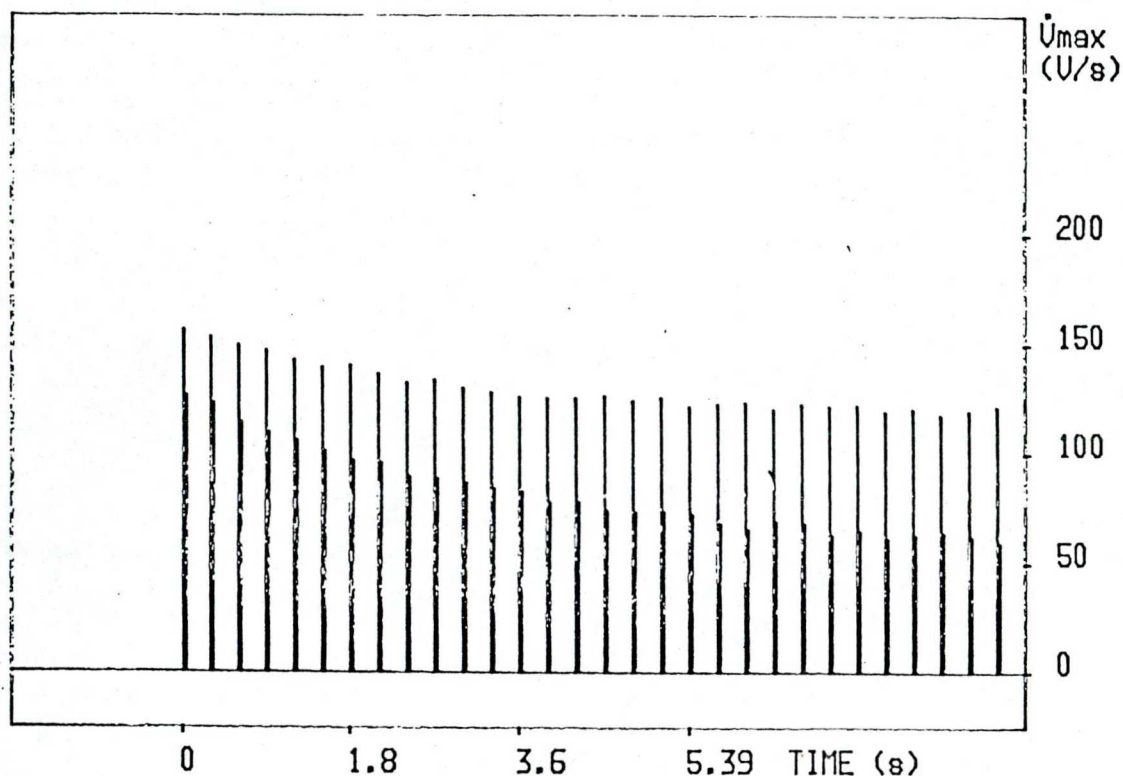
48. ábra A gyors Na-csatorna inaktivációból történő helyreállása pitvari miokardiumban, KC-4965 jelenlétében



49. ábra A KC-4965 által indukált frekvencia-függő dV/dt_{\max} blokk kialakulása bal pitvari miokardiumban 1200 ms interstimulus intervallumú hajtás mellett



50. ábra A KC-4965 által indukált frekvencia-függő dV/dt_{\max} blokk kialakulása bal pitvari miokardiumban 600 ms interstimulus intervallumú hajtás mellett



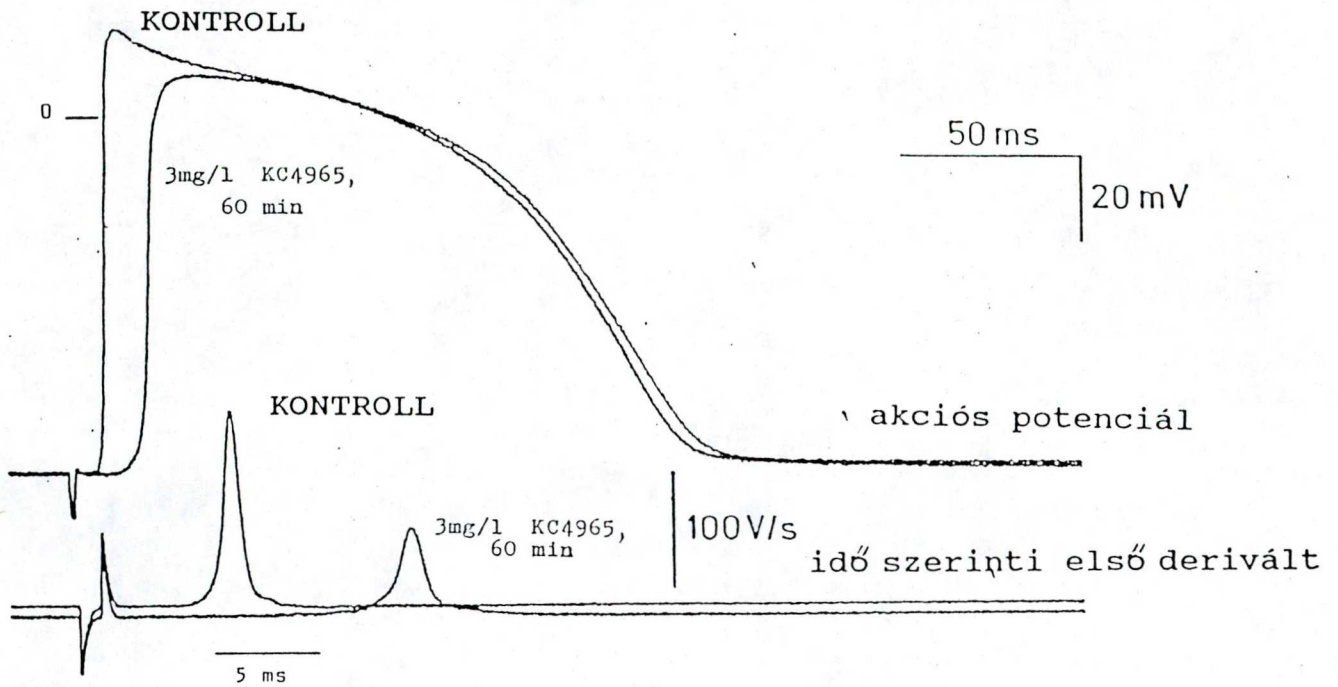
51. ábra A KC-4965 által indukált frekvencia-függő dV/dt_{\max} blokk kialakulása bal pitvari miokardiumban 300 ms interstimulus intervallumú hajtás mellett

10. TÁBLÁZAT

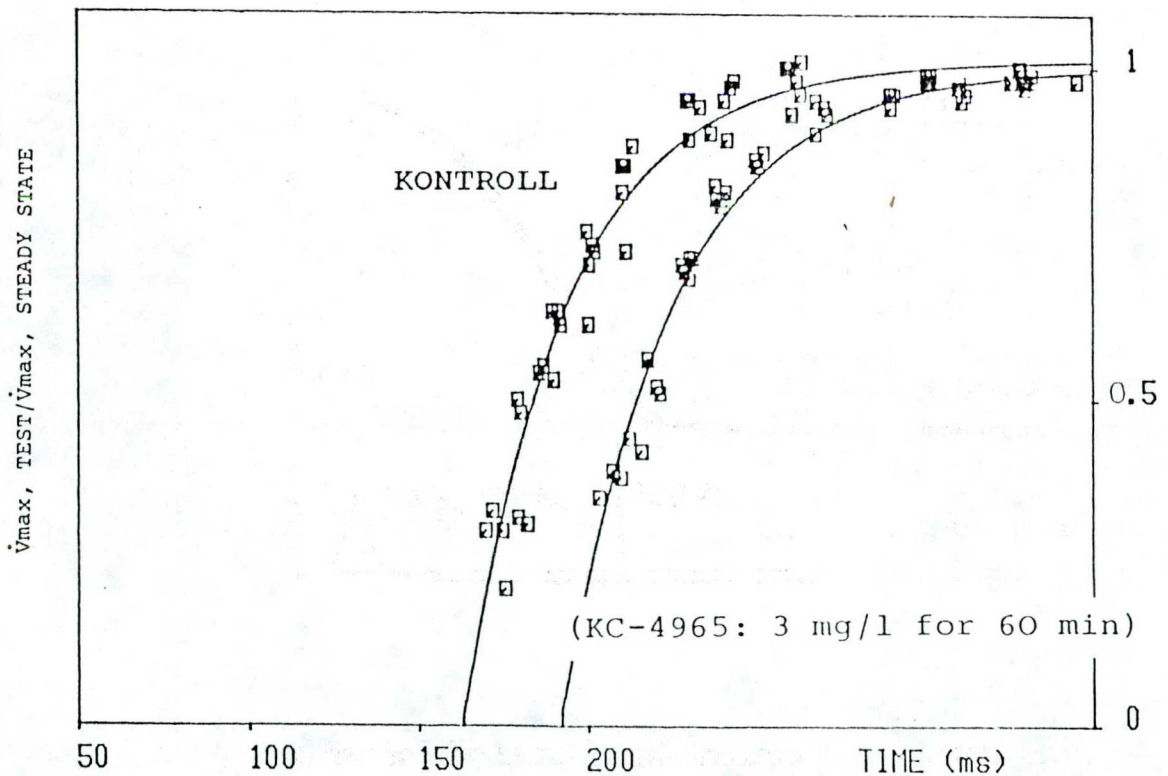
A KC-4965 által indukált frekvencia-függő dV/dt_{\max} blokk kialakulásának jellemző paraméterei nyúl pitvari miokardiumban

Paraméter:					
Ciklushossz (ms)	A (V/s)	-b (s ⁻¹)	n (dimenzió nélküli)	C (V/s)	-b' (AP ⁻¹)
300	37.40 ± 12.14	0.204 ± 0.174	1.04 ± 0.057	19.49 ± 3.25	0.061
600	12.34 ± 15.08	0.108 ± 0.074	1.65 ± 3.23	8.69	0.065
1200	-	-	-	-	-

átlag ± SD.
 kísérletszám: 5
 -: nem mérhető



52. ábra KC-4965 hatása jobb kamrai papilláris izomból elvezetett akciós potenciálra



53. ábra A gyors Na-csatorna inaktivációból történő helyreállása kamrai miokardiumban, KC-4965 jelenlétében

11. TÁBLÁZAT

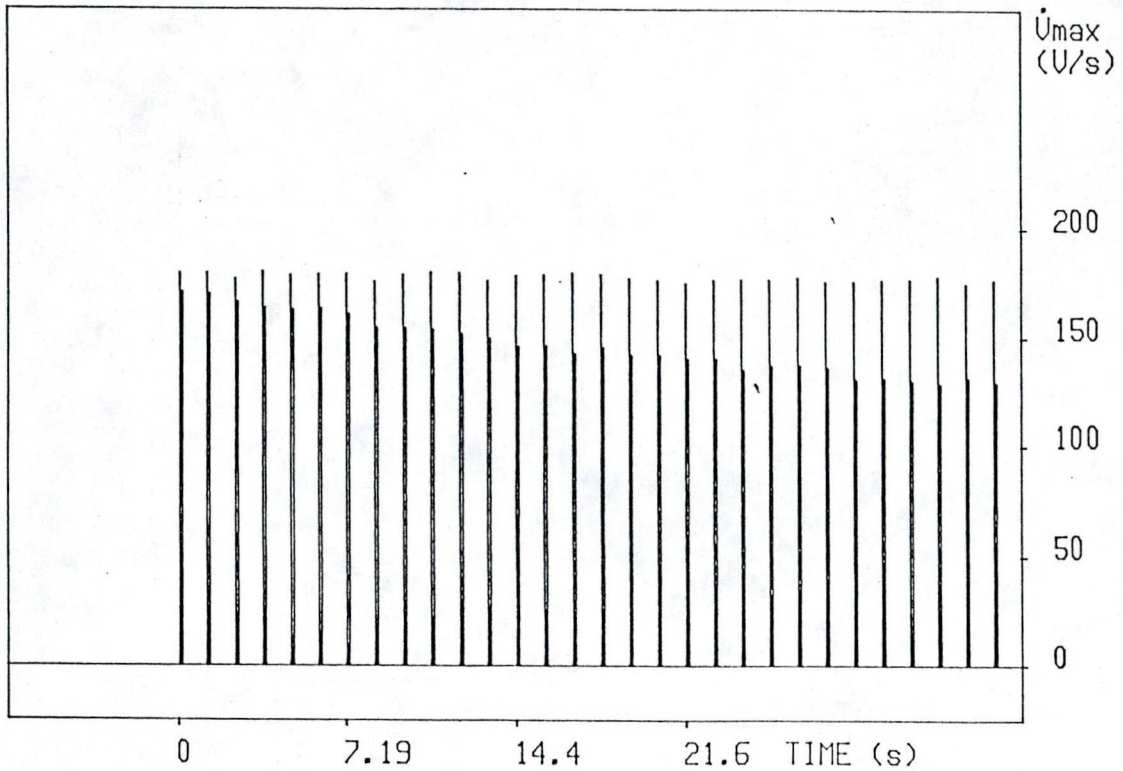
KC-4965 hatása a transzmembrán potenciál paraméterekre
jobb kamrai papilláris izomban

Nyugalmi potenciál (mV)	Akció potenciál amplitúdó (mV)	dV/dt_{max} (V/s)	APD ₁₀ (ms)	APD ₅₀ (ms)	APD ₉₀ (ms)	ERP (ms)
KONTROL						
-80.12 ± 2.10	94.92 ± 6.28	171.54 ± 7.47	32.59 ± 1.80	125.92 ± 8.26	159.66 ± 12.14	180.22 ± 8.53
3 mg/l KC-4965 (inkubációs idő: 60 perc)						
-80.17 ± 2.82	90.24 ± 4.23	74.41 [*] ± 10.15	67.00 [*] ± 3.87	117.33 [*] ± 6.13	151.74 ± 7.56	212.19 [*] ± 5.89
HELYREÁLLÁS (60 perc mosás után)						
-78.59 ± 5.36	92.06 ± 5.26	104.94 [*] ± 10.01	51.50 [*] ± 4.98	120.48 ± 4.31	151.98 ± 8.81	194.73 [*] ± 11.38
átlag ± SD. kísérletszám = 5 * : p ≤ 0.05 (Student-t vagy Welch teszt)						

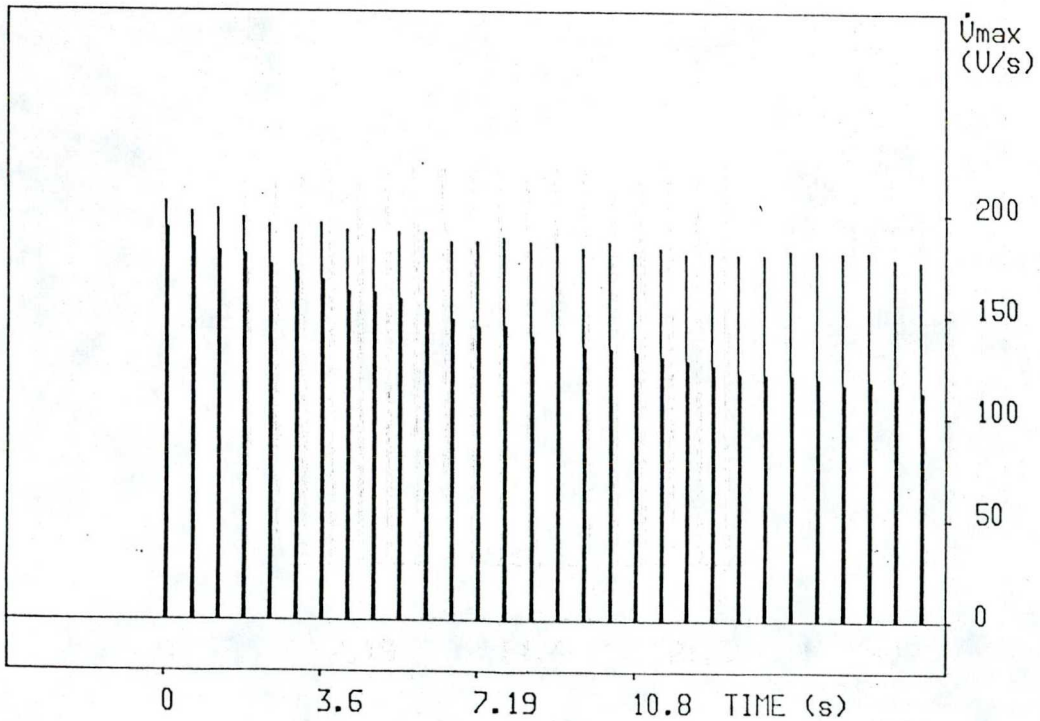
12. TÁBLÁZAT

A KC-4965 által indukált frekvencia-függő dV/dt_{max} blokk kialakulásának
jellemző paraméterei kamrai miokardiumban

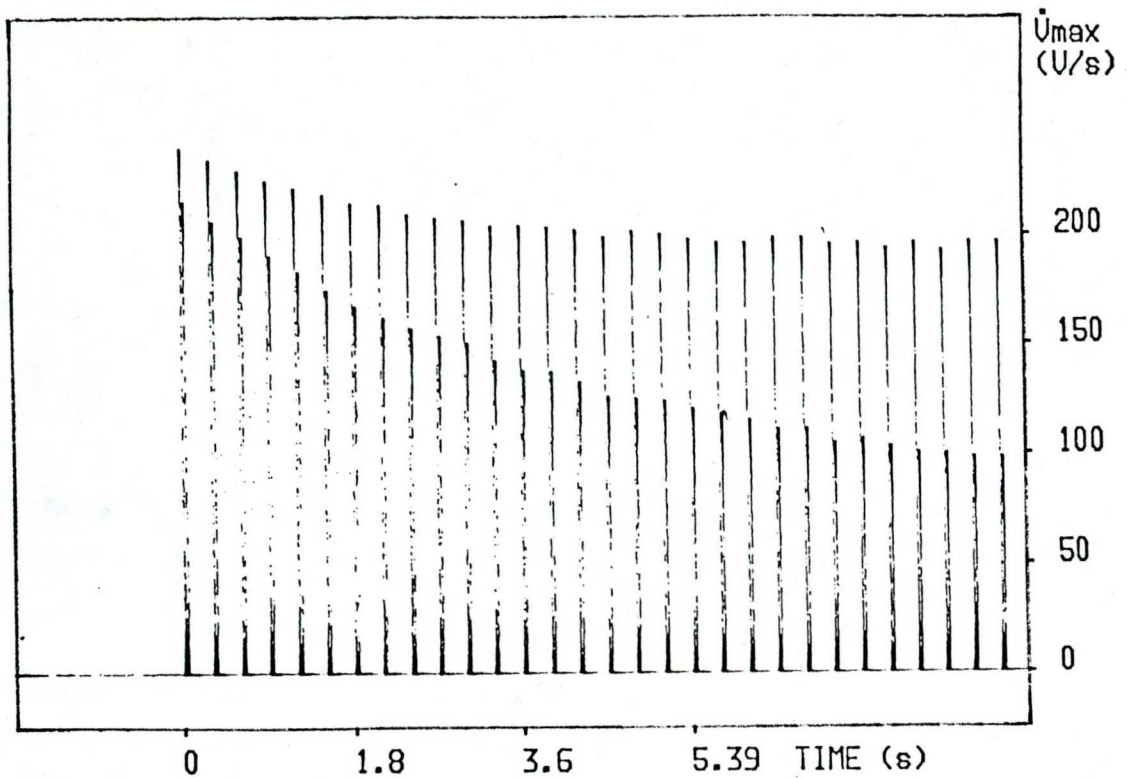
Paraméter:					
Ciklushossz (ms)	A (V/s)	-b (s ⁻¹)	n (dimenzió nélküli)	C (V/s)	-b' (AP ⁻¹)
300	91.60 ± 17.95	0.166 ± 0.074	1.13 ± 0.027	22.87 ± 2.78	0.050
600	85.80	0.070	1.12	7.61	0.042
1200	57.83	0.043	-	-	-
átlag ± SD. kísérletszám: 5 -: nem mérhető					



54. ábra A KC-4965 által indukált frekvencia-függő dV/dt_{\max} blokk kialakulása kamrai miokardiumban 1200 ms interstimulus intervallumú hajtás mellett



55. ábra A KC-4965 által indukált frekvencia-függő dV/dt_{\max} blokk kialakulása kamrai miocardiumban 600 ms interstimulus intervallumú hajtás mellett



55. ábra A KC-4965 által indukált frekvencia-függő dV/dt_{\max} blokk kialakulása kamrai miocardiumban 300 ms interstimulus intervallumú hajtás mellett

Pitvari és kamrai munkaizomzaton (papilláris izom) kapott **eredményeink alapján** a KC-4965 egyértelműen a gyors Na-csatorna blokkolók IC. osztályába tartozik (ld. 3./ pontot). Az a tény, hogy a frekvencia-függő dV/dt_{\max} blokk alacsonyabb hajtó-frekvenciák mellett jelentkezik a pitvarinál jóval hosszabb kamrai akciós potenciálok esetében arra mutat, hogy a szer nagy valószínűséggel az inaktív állapotban lévő gyors Na-csatornához kötődik (ld. 4.2./ és 4.4/ pontokat). A kötődési folyamat feltehetően több lépésben megy végbe (ld. a pitvari preparátumok esetében kapott n értékeket) ill. az sem kizárható, hogy két kooperatív KC-4965 kötőhely létezik magán az inaktív gyors Na-csatornán.

9./ A szerző előadásainak ill. közleményeinek jegyzéke

- 1.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Vizsgálati program a gyors Na^+ -csatorna aktivációjának és inaktivációjának tanulmányozására nem-voltage-clamp körülmények között szívizomban. A Magyar Élettani Társaság 48. Vándorgyűlése, p43, Pécs 1983
- 2.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Experimental program for the study of activation and inactivation of the fast Na^+ channel under non-voltage-clamp conditions. Acta. Physiol. Acad. Sci Hung. 63: 332, 1984.
- 3.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Kinetic analysis of the effect of CH-101, an isoquinoline derivative with preferential supraventricular antiarrhythmic properties, on the fast sodium channel in atrial myocardium, Interational Society for Heart Research, Abstracts p12, Szeged 1984.
- 4.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
A gyors Na^+ -áram gátlásának kinetikai analízise fázis-sík módszerrel szívizomban. A Magyar Élettani Társaság 49. Vándorgyűlése, e62, Szeged, 1984
- 5.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Kinetic analysis of the myocardial fast sodium current by phase-plane method. Acta Physiol. Acad. Sci Hung. 63: 252, 1985.
- 6.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Különbségek a pitvari és kamrai myokardium kontraktilitásának Ca^{++} -függő szabályozásában. A Magyar Élettani Társaság 50. Vándorgyűlése, e82, Budapest, 1985
- 7.) Horváth Á., Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Szimulált ischaemia hatása a myokardium mechanikai aktivitására. A Magyar Élettani Társaság 50. Vándorgyűlése, p89, Budapest, 1985.
- 8.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
A CH-101 - egy elsősorban szupraventrikuláris antiaritmiás tulajdonságú izokinolin származék - gyors Na^+ -csatornára gyakorolt hatásának kinetikai analízise bal pitvari miokardiumban. A Magyar Kardiológusok Társaságának Tudományos Ülése, p137, Balatonfüred, 1985
- 9.) Horváth Á., Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
A CH-101 pozitív inotróp hatásának elemzése. A Magyar Kardiológusok Társaságának Tudományos Ülése, p138, Balatonfüred, 1985.
- 10.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Differences in Ca^{++} -dependent control processes of atrial and ventricular contractility. Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung. 68: 259, 1986.
- 11.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Electrical and mechanical activity of the myocardium as affected by CH-101, an antiarrhythmic agent with preferential supraventricular action. In: Szekeres L., Papp J. Gy. (Eds): Pharmacological Protection of the Myocardium. Pergamon Press - Akadémiai kiadó, Oxford - Budapest, 1986. p. 163.

- 12.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
A maximális kontrakciós erő "post-rest" potencírozásának $[Ca^{++}]_0$ függése pitvari és kamrai myocardiumban. A Magyar Élettani Társaság 51. Vándorgyűlése, p54, Keszthely, 1986.
- 13.) Virág L., Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
A kalcium-antagonista sajátságú KHL-8430 lassú és gyors válaszra kifejtett hatásának elektrofiziológiai elemzése kamrai myocardiumban. A Magyar Élettani Társaság 51. Vándorgyűlése, p44, Keszthely, 1986.
- 14.) Horváth Á., Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Effect of simulated ischaemia on mechanical activity of the myocardium. Acta. Physiol. Acad. Sci Hung. 68: 273, 1986.
- 15.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Prajmaline as a calcium antagonist in cardiac tissue. J. Mol. Cell. Cardiol. 19S-1987.
- 16.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Gyors Na^+ - és lassú Ca^{++} blokkolók hatása a "post-rest" potencírozásra bal pitvari miokardiumban. A Magyar Élettani Társaság 52. Vándorgyűlése, p8. Pécs, 1987.
- 17.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
A Ca^{++} és a theophyllin "post-rest" potencírozásra gyakorolt hatásának elemzése pitvari és kamrai myocardiumban. A Magyar Kardiológusok Társaságának Tudományos Ülése, e125, Balatonfüred, 1986.
- 18.) Papp J. Gy., Hála O., Szekeres L.:
Novel cardiotonic drugs and inotropic mechanism. J. Mol Cell. Cardiol. 19S-III: 210, 1987.
- 19.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
A prajmalin Ca^{++} -antagonista hatásának vizsgálata nyúlszív különböző régióiban. A Magyar Élettani Társaság 53. Vándorgyűlése, e60, Szeged. 1988.
- 20.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Gyors nátrium-csatorna blokkolók elektrofarmakológiai hatásának összehasonlító elemzése szívizomban és Purkinje-roston. A Magyar Élettani Társaság LIV. Vándorgyűlése, p13. Debrecen, 1989.
- 21.) Lengyel Cs., Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Catechol-aminok hatása a pacemaker aktivitásra és kontraktilitásra nyúlszívpreparátumokon. A Magyar Élettani Társaság 54. Vándorgyűlése, p15. Debrecen, 1989.
- 22.) Papp J. Gy., Hála O., Virág L., Szekeres L.:
Subsidiary class 4 antiarrhythmic properties of prajmaline. J. Mol. Cell. Cardiol. 21S-IV: 9, 1989.
- 23.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Computer assisted analysis of mechanical activity as affected by calcium antagonists under ischaemic circumstances in rabbit papillary muscles. J. Mol. Cell. Cardiol. 22S-III: 105, 1990.
- 24.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Mechanical activity of the ischaemic myocardium as affected by verapamil and

- 25.) Lengyel Cs., Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Inotropic effect of dobutamine, dopamine and dopexamine under ischaemic conditions. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 22S-III: 108, 1990.
- 26.) Lengyel Cs., Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Dopamine, dopexamine and dobutamine as inotropic and automatotropic agents. *Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung.* 75: 193, 1990.
- 27.) Papp J. Gy., Hála O.:
A szív intracelluláris akciós potenciáljának mikrokomputeres elemzése. In: Antalóczy Z. (Szerk.): Számítástechnika és kardiológiai alkalmazása. Medicina, Budapest, 1990., 129-140. old.
- 28.) Hála O., Papp J. Gy.:
Effect of beta-blockers on contractility under ischaemic conditions in rabbit papillary muscle. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 23S-V: 82, 1991.
- 29.) Hála O., Papp J. Gy., Szekeres L.:
Adrenerg béta-receptor gátlók negatív inotróp hatásának kinetikája kombinált hypoxiában, hyperkalemiában és acidózisban. A Magyar Élettani Társaság 56. Vándorgyűlése, p23. Szeged, 1991.
- 30.) Krassói I., Hála O., Papp J. Gy.:
Spontán és triggerelt aktivitás gátlása Purkinje-roston antiarrhythmias szerekekkel. A Magyar Élettani Társaság 56. Vándorgyűlése, p26. Szeged, 1991.
- 31.) Krassói I., Hála O., Papp J. Gy.:
Effect of prajmaline on triggered and spontaneous electrical activity in canine cardiac Purkinje fibres. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 23S-V: 109., 1991.
- 32.) Mester L., Hála O., Papp J. Gy.:
A milrinon és pimobendán inotróp hatásának vizsgálata kombinált hypoxiában, hyperkalaemiában és acidózisban. A Magyar Élettani Társaság 56. Vándorgyűlése, p29. Szeged, 1991.
- 33.) Mester L., Hála O., Papp J. Gy.:
Milrinon hatása kombinált hyperkalaemiában, hypoxiában és acidózisban. A Magyar Kardiológusok Társaságának Tudományos ülése, p92. Balatonfüred, 1991.
- 34.) Mester L., Hála O., Papp J. Gy.:
Inotropic effects of milrinone and pimobendane in combined hypoxia, hyperchalemia and acidosis. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 23S-V: 42, 1991.
- 35.) Nagy Á., Hála O., Papp J. Gy.:
Mexiletin hatása a sinus csomó, AV-junctio és Purkinje-rostok automáciájára diazepam jelenlétében. A Magyar Élettani Társaság 56. Vándorgyűlése, p31. Szeged, 1991.
- 36.) Nagy Á., Hála O., Papp J. Gy.:
Mexiletin hatása a sinus csomó, AV-junctio és Purkinje-rostok automáciájára diazepam jelenlétében. A Magyar Kardiológusok Társaságának Tudományos Ülése, p91. Balatonfüred, 1991.
- 37.) Nagy Á., Hála O., Papp J. Gy.:
Effect of mexiletin on the automacity of cardiac preparations in the presence of diazepam. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 23S-V: 92., 1991.

- 38.) Hála O., Papp J. Gy.:
Kinidin, Prajmalin és IV. osztályba tartozó antiaritmiás szerek kalcium antagonisták aktivitásának összehasonlító elemzése nyúl aorta preparátumokon. A Magyar Élettani Társaság 57. Vándorgyűlése, p26, Pécs, 1992.
- 39.) Hála O., Papp J. Gy.:
Calcium antagonist activity of quinidine and prajmaline compared to that of class IV antiarrhythmics in rabbit aortic smooth muscle. Pharmacol. Res. 25-SII:133 1992.
- 40.) Hála O. Papp J. Gy., Szelényi I.:
Comparative analysis of calcium antagonist activity of naftopidil and diltiazem in slow-response experiments. J. Mol. Cell. Cardiol. 24S-5:94., 1992.
- 41.) Hála O. és Papp J. Gy.:
Naftopidil, Verapamil és Diltiazem calcium-antagonista aktivitásának összehasonlító elemzése lassú-válasz kísérletekben. A Magyar Farmakológus Társaság Experimentális Szekciójának Tudományos Ülése, Budapest, 1992.

