

i

A pitvarfibrilláció kezelésére alkalmazható új farmakológiai stratégiák vizsgálata kísérletes nagy állat modellen

PhD értekezés tézisei

Juhász Viktor, MD



**Szeged
2017**

**A pitvarfibrilláció kezelésére alkalmazható új
farmakológiai stratégiák vizsgálata
kísérletes nagy állat modellen**

PhD értekezés tézisei

Juhász Viktor, *MD*

**Témavezető:
Baczkó István, *MD, PhD, habil***

Szegedi Tudományegyetem

**Általános Orvostudományi Kar
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet**

SZTE Multidiszciplináris Doktori Iskola

Szeged

2017

A DISSZERTÁCIÓ TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

I. Juhász V., Hornyik T, Benák A, Nagy N, Husti Z, Pap R, Sággy L, Virág L, Varró A, Baczkó I. Comparison of the effects of $I_{K,ACh}$, I_{Kr} and I_{Na} block in conscious dogs with atrial fibrillation and on action potentials in remodeled atrial trabeculae. CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY, **2017**, *elfogadva, kiadás alatt*
IF (2016): 1,822 (Q2)

II. Baczkó I, Liknes D, Yang W, Hamming KC, Searle G, Jaeger K, Husti Z, Juhász V., Klausz G, Pap R, Sággy L, Varró A, Dolinsky V, Wang S, Hall D, Dyck JR, Light PE. Characterization of a novel multi-functional resveratrol derivative for the treatment of atrial fibrillation. BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY, **2014**, 171(1): 92-106. doi: 10.1111/bph.12409.
IF (2014): 4,842 (Q1/D1)

III. Jost N, Kohajda Zs, Kristóf A, Kovács PP, Husti Z, Juhász V., Kiss L, Varró A, Virág L, Baczkó I. Atrial remodeling and novel pharmacological strategies for antiarrhythmic therapy in atrial fibrillation. CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY, **2011**, 18(24): 3675-3694. doi:10.2174/092986711796642373.
IF (2011) = 4,859 (Q1)

Összesített impakt faktor: 11,523

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

I. Major P, Baczkó I, Hiripi L, Odening KE, Juhász V., Kohajda Zs, Horváth A, Prorok J, Seprényi Gy, Kovács M, Ördög B, Doleschall Z, Nattel S, Varró A, Bősze Zs. A novel transgenic rabbit model with reduced

repolarization reserve: long QT syndrome caused by a dominant-negative mutation of KCNE1 gene. *BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY*, **2016**, 173(12): 2046-2061. doi: 10.1111/bph.13500.

IF (2016) = 5,491 (Q1/D1)

II. Husti Z, Tábori K, **Juhász V**, Hornyik T, Varró A, Baczkó I. Combined inhibition of key potassium currents differently affects cardiac repolarization reserve and arrhythmia susceptibility in dogs and rabbits. *CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY*, **2015**, 93(7): 535-544. doi: 10.1139/cjpp-2014-0514.

IF (2015) = 1,704 (Q2)

III. Kristóf A, Husti Z, Koncz I, Kohajda Zs, Szél T, **Juhász V**, Biliczki P, Jost N, Baczkó I, Papp JGy, Varró A, Virág L. Diclofenac prolongs repolarization in ventricular muscle with impaired repolarization reserve. *PLOS ONE*, **2012**, 7(12): e53255. doi:10.1371/journal.pone.0053255.

IF (2012) = 3,73 (Q1)

Idézhető absztraktok száma: 22

A tézis tárgyához kapcsolódó közlemények impakt faktora: 11,523

Egyéb közlemények impakt faktora: 10,925

Összesített impakt faktor: 22,448

RÖVIDÍTÉSEK

APD ₂₅ , APD ₅₀ , APD ₉₀	Akciós potenciál időtartama a repolarizáció 25, 50 és 90%-án
ERP	Effektív refrakter periódus
I _{K,ACh}	Acetilolin aktiválta káliumáram
I _{Kr}	Késői egyenirányító káliumáram gyors komponense
I _{Kur}	Ultra gyors („ultrarapid”) pitvari kálium áram
I _{Na}	Feszültségfüggő nátriumáram
NFAT	Aktivált T-sejt nukleáris faktora
PERP	Pitvari effektív refrakter periódus
PF	Pitvarfibrilláció
TdP	Torsades de Pointes kaotikus kamrai tachycardia

BEVEZETÉS

A pitvarfibrilláció (PF) a leggyakrabban előforduló krónikus szívritmuszavar, mely növeli a morbiditást és mortalitást a betegséget kísérő tromboembóliás szövődmények és a gyakran kialakuló következményes szívelégtelenség miatt. Prevalenciája és incidenciája gyorsan növekszik a fokozatosan öregedő társadalomban, esetszáma 2060-ra a becslések szerint az Európai Unióban megkétszereződik. Óriási az igény a PF biztonságosabb és hatékonyabb gyógyszeres kezelésére, mivel a PF-ban ritmuskontrollra használt szerek jelentősen emelhetik a Torsades de Pointes (TdP) kamrai ritmuszavarok kialakulásának kockázatát; káros mellékhatásokat hozhatnak létre eregekben; perzisztens PF-ban csökkent hatékonyságot mutatnak; és a leghatásosabb antiaritmias szer, az amiodaron súlyos extrakardiális mellékhatásokat okoz hosszan tartó adagolást követően. A PF-t kísérő elektromos átépülés („remodeling”) részeként továbbá számos ioncsatorna és ion cseremechanizmus expressziója megváltozik, ez módosíthatja az aritmia szubsztrátot, valamint fokozott triggerelt aktivitáshoz vezet, és a fenti okok következtében a PF öfenntartóvá válik, jelentősen megváltoztatva a lehetséges gyógyszer támadáspontokat is.

A PF gyógyszeres kezelésének javítására az egyik lehetséges mód a csak pitvarokban kifejeződő gyógyszer célpontok azonosítása, mivel a pitvarszelektív ioncsatorna moduláció nem vezetne kamrai proaritmias mellékhatások kialakulásához. Az ultragyors kifelé egyenirányító I_{Kur} káliumáramot vezető $K_v1.5$ káliumcsatorna ilyen támadáspontot képvisel. A csatorna gátlása megnyújtja a pitvari akciós potenciál (APD) és az effektív refrakter periódus (ERP) időtartamát. Ugyanakkor az I_{Kur} expresszió változásáról szóló adatok kísérletes pitvarfibrillációs állatmodellekben és humán vizsgálatokban ellentmondóak, és néhány klinikai tanulmány a csatorna „down-regulációját” mutatta krónikus PF-ban szenvedő betegekben. Egy másik pitvarszelektív gyógyszer támadáspont az acetilkolin receptor aktivált befelé egyenirányító $I_{K_{ACh}}$ ($K_{ir}3.1/K_{ir}3.4$) csatorna, mely jóval nagyobb mértékben található meg a pitvarokban a kamrákhoz viszonyítva. Annak ellenére, hogy az $I_{K_{ACh}}$ csökkent expresszióját mutatták ki krónikus PF-ban, egy konstitutívan aktív $I_{K_{ACh}}$ komponens is azonosítottak perzisztens pitvarfibrillációs betegekben. Ennek

megfelelően az $I_{K,ACH}$ gátlása ígéretes célpont lehet a PF kezelése során. Az $I_{K,ACH}$ szelektív blokkolása izoflurán és tiopentál kombinációjával altatott állatmodellben jótékony hatást mutatott PF ellen. Fontos kiemelni, hogy a tiopentál és izoflurán számos, jól ismert ioncsatorna moduláló hatással rendelkezik. A tiopentál gátolja az $I_{Ca,L}$, I_{K1} , I_{Ks} , az izoflurán blokkolja az $I_{Ca,L}$ és I_{Ks} áramokat, befolyásolja a mitokondriális kalcium-aktiválta K^+ csatornákat. Ezen szívizom ioncsatorna hatások alapvetően befolyásolhatják a pitvari és kamrai ritmuszavarokra irányuló vizsgálatokat az épp alkalmazott altatószertől függően, így tiopentál és izoflurán esetében is.

A PF komplex etiológiájának megfelelően felvetődött, hogy a PF létrejöttében szerepet játszó, szerteágazó mechanizmusok párhuzamos befolyásolása hatásosabbnak bizonyulhat a ritmuszavar kezelése során. Az elmúlt 15 év PF celluláris mechanizmusainak kutatásai lehetséges új terápiás célpontokat azonosítottak. A fent említett ioncsatornákon kívül a feszültségfüggő nátrium csatornák, a kétpórusú káliumcsatornák, az oxidatív stressz és az NFAT transzkripció faktor szerepét is kimutatták a PF kialakulásában. Az eddigi kutatások során csak ioncsatornákra ható szereket fejlesztettek a PF kezelésére. Ugyanakkor, a nem ioncsatornákhöz köthető átépülés („remodeling”) is nagy valószínűséggel fontos szerepet játszik a PF létrehozásában és fenntartásában. A PF sokkal hatékonyabb kezelése érdekében a patológiás átépülési folyamatok célba vétele („upstream” terápia) is szükségesnek tűnik.

CÉLKITŰZÉSEK

1. A pitvarfibrilláció *in vivo* nagyállat modelljének meghonosítása a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetben a pitvarfibrilláció kezelésére fejlesztett új gyógyszerjelöltek tesztelése, valamint a PF kialakulási mechanizmusainak *in vitro* vizsgálataihoz remodelinggel rendelkező pitvari szövet biztosítása céljából.
2. A beállított nagyállat modellen egy pitvar-szelektív ioncsatorna blokkoló hatásainak vizsgálata a PF kiválthatóságára, a PF epizódok számára és időtartamára, valamint a jobb pitvari effektív refrakter periódus hosszára éber kutyákon, és ezen szerek

hatásmechanizmusainak vizsgálata a fenti állatokból izolált pitvari trabekulákon.

3. Sokoldalú hatásmechanizmussal rendelkező, párhuzamosan a PF létrejöttében szerepet játszó ioncsatornákat és celluláris anyagcsere utakat moduláló kísérletes vegyület vizsgálata éber kutya krónikus jobb pitvari gyors szívingerléssel kiváltott pitvarfibrilláció modellen.

MÓDSZEREK

Etikai megfontolások, kísérleti állatok

Vizsgálatainkat az NIH Laboratóriumi Állatok Kezelésének és Használatának Irányelveivel összhangban végeztük (NIH Publikáció No. 85-23, 1996-os revízió). A kísérleti protokollokat a Szegedi Tudományegyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottsága jóváhagyta (engedélyszám: I-74-5-2012) és azokat a Csongrád Megyei Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Élelmiszerlánc-biztonsági és Állategészségügyi Igazgatósága engedélyezte (engedélyszám: XIII/1211/2012).

Krónikus, gyors pitvari szívingerlés kiváltotta PF nagy állat modell meghonosítása laboratóriumunkban

12-16 kg tömegű hím Beagle kutyákat használtunk a kísérletekhez. A kísérletek megkezdése előtt egy héten keresztül, az állatokat a kísérletet végző személyzethez szoktattuk. A pacemaker és pacemaker elektróda beültetéseket ketamin (indukció: 10 mg/kg i.v., fenntartás: 2 mg/kg, 20 percnként) + xylazin (indukció: 1 mg/kg, fenntartás: 0.2 mg/kg, 20 percnként) altatásban végeztük. A beültetéseket megfelelő antibiotikus kezelés mellett végeztük: amoxicillin/klavulánsav (1000 mg/200 mg i.v.) és gentamicin (40 mg i.v.) a műtétet megelőzően, amoxicillin/klavulánsav (500 mg/125 mg per os, naponta kétszer 5 napig (Augmentin 500mg/125mg®) a műtétet követően. A perioperatív fájdalomcsillapítást metamizol (1000 mg i.v., 1g/2ml;) és tramadol (50 mg i.v.) adagolásával biztosítottuk. Két bipoláris pacemaker elektródát (Synox SX 53-JBP és Synox SX 60/15-BP) pozicionáltunk a jobb pitvari fülcse és a jobb kamra csúcs régióba, az elektródákat pacemakerekhez csatlakoztattuk (Logos DS és Philos S), melyeket a nyaki régióban szubkután kialakított zsebekben

helyeztünk el. Ezt követően az AV csomó rádiófrekvenciás ablációját végeztük el teljes AV blokk létrehozása céljából. A pacemakereket ICS 3000 Programmer segítségével programoztuk (Biotronik Hungary). A műtéti lábadozást követően (3-5 nap), jobb pitvari gyors szívingerlést kezdtünk 400/perc frekvenciával, melyet 6-7 héten keresztül tartottunk fel a pitvarok elektromos átépülésének („electrical remodeling”) biztosítása érdekében. A folyamatot a jobb pitvari effektív refrakter periódus (PERP) kétnaponta történő mérésével követtük. A PERP mérését 150 és 300 ms ciklushossz mellett végeztük 10 stimulust (S1) követő extra stimulus (S2) alkalmazásával, és a PERP-t a leghosszabb, választ már ki nem váltó S1-S2 intervallum időtartamaként definiáltuk.

A kísérlet napján a pitvari ingerlést felfüggesztettük, folyamatos EKG regisztrálást kezdtünk (mellkasi elvezetések), a PERP-t mértük. A kísérlet elején egy kontroll sorozat (25 alkalommal) 10 másodperc időtartamú pitvari „burst” stimulálást (800/perc, küszöbérték kétszeresén) alkalmaztunk éber kutyákon pitvarfibrilláció kiváltása céljából, melyet a vivőanyag 15 percig tartó infúziója előzött meg. A PERP mérését követően további pitvari „burst” stimulálásokat alkalmaztunk tertiapin-Q (Tocris Bioscience, Bristol; 18 µg/kg majd 56 µg/kg), vagy dofetilid (Sigma-Aldrich, 25 µg/kg), vagy propafenon (RYTMONORM, 0.3 mg/kg majd 1 mg/kg) i.v. adagolása után. A különböző hatóanyagokkal elvégzett *in vivo* kísérletek között legalább 4 napos kimosási időt biztosítottunk. Az intravénás hatóanyag adagolást programozható infúziós pumpával hajtottuk végre (Terufusion TE-3). A mellkasi elvezetésekkel felvett és digitalizált EKG regisztrátumokat off-line értékeltük SPEL Advanced Haemosys szoftver segítségével (3.2 verzió, MDE Heidelberg GmbH). A pitvarfibrilláció incidenciáját, a pitvarfibrillációs epizódok átlagos és teljes időtartamát számítottuk a PERP és QT intervallum mérése mellett. A QT intervallumot a pacemaker implantált kutyákon a 12. „burst” stimuláció előtt mértük, továbbá szívfrekvencia korrekciót nem alkalmaztunk, hiszen a QT intervallum méréseket a kamrai pacemakerrel 80/perc frekvenciára beállított szívfrekvencia mellett végeztük. A kísérleteket szabadon mozgó, éber kutyákon kiviteleztük, hogy az altatószerek PERP-re és pitvarfibrillációra kifejtett zavaró hatásait kizárhassuk.

Akciós potenciál mérések kutya jobb pitvari trabekulán konvencionális mikroelektrod technika segítségével

Az *in vivo* PF kísérletekben szereplő kutyákat használtuk méréseinkhez. Szedálást (xylazin, 1 mg/kg, i.v. és ketamin, 10 mg/kg, i.v.) és anesztéziát (pentobarbitál, Sigma-Aldrich, 30 mg/kg i.v.) követően a szívét gyorsan eltávolítottuk jobb laterális thoracotomia során. A szíveket azonnal módosított, oxigenizált Locke oldatba helyeztük, melynek összetétele a következő volt (mM-ban): NaCl 128,3; KCl 4; CaCl₂ 1,8; MgCl₂ 0,42; NaHCO₃ 21,4; és glukóz 10. Az oldat pH-ját 7.35 és 7.4 közé állítottuk be 95% O₂ és 5% CO₂ keverékével való szaturáció mellett, 37 °C-on. A jobb pitvari trabekulákat izoláltuk, és 50 ml ürtartalmú szövetfürdőbe helyeztük. A preparátumokat platina elektródokkal, 2 ms időtartamú négyszögimpulzusokkal stimuláltuk. Az ingerlést konstans 500 ms ciklushossz mellett, legalább 60 percig alkalmaztuk az egyensúlyi állapot eléréséig, mielőtt a méréseket elkezdtük. A transzmembrán feszültséget konvencionális üvegelektrodákkal mértük, melyeket 3M KCl oldattal töltöttünk fel (ellenállás 5-20 MΩ), és csatlakoztattuk egy magas impedanciájú elektrométerhez (309-es típus, MDE Heidelberg GmbH, Heidelberg), melyet oszcilloszkóppal kötöttünk össze. A vezetési időt, a maximális diasztolés potenciált, az akciós potenciál amplitúdóját, és az akciós potenciálnak a repolarizáció 25%, 50% és 90%-án mért időtartamát (APD₂₅, APD₅₀ és APD₉₀) „off-line” értékeltük egy egyedileg készített szoftverrel, egy ADA 3300 analóg-digitális adatgyűjtő kártyával felszerelt számítógépen (Real Time Devices, State Collage), 40 kHz maximális mintavételezési frekvencia mellett. A kísérletek során konstans, 500 ms ciklushossz mellett ingereltük a preparátumokat. Törekedtünk az elektród pozíciójának fenntartására a kísérletek során, ugyanakkor, ha a preparátum megszurását meg kellett ismételni, a kísérletet csak akkor folytattuk, ha az akciós potenciál paraméterek az új szúrás után kevesebb, mint 5%-ban tértek el az új szúrást megelőzően mért paraméterektől.

A pitvarfibrillációban fontos szerepet játszó egyes ionáramok mérése a rezveratrol származék C1 hatásainak vizsgálata során

A rezveratrol és származékainak, a C1-C4-nek, különösen a C1-nek az I_{Kur}, I_{K,ACh}, I_{Na,peak} és I_{Na,late}, és az I_{K1} és I_{Kr} áramokra való hatásainak

részletes jellemzését kanadai kollégáink végezték el. Röviden, a $K_v1.5$, hERG és $Na_v1.5$ áramokat tsA201 sejtekből mérték, melyek a humán szív $K_v1.5$, $K_v11.1$ és $Na_v1.5$ csatornákat kódoló géneit expresszálták, az árammérések a patch clamp technika egész sejt konfigurációjában történtek. A carbachol indukálta $I_{K,ACH}$ áramokat izolált patkány pitvari sejteken mérték.

Szívizom sejt kontraktilitás és kalcium tranziens regisztrátumok

Felnőtt Sprague-Dawley patkányokból pentobarbitál túlaltatást követően (150 mg/kg, i.p.) jobb kamrai szívizomsejteket izoláltak a munkacsoportuk által korábban publikált standard módszerrel. A sejtek kontraktilitását téringerlés mellett mérték, míg a kalcium tranzienseket fluoreszcens Calcium Green-1AM festékkel, korábban már a munkacsoportuk által közölt eljárásokat követve.

NFAT assay

Kamrai szívizomsejteket izoláltak 1-3 napos újszülött patkányokból majd tenyésztették a sejteket 40 órán keresztül. A sejteket Ad.GFP vagy Ad.NFAT-Luc-Promoter adenovírussal infektálták. A sejteket az infekció után 24 órával vivőanyaggal, vagy a C1 vagy a rezveratrol különböző koncentrációival, és/vagy angiotenzin II-vel kezelték (1 $\mu\text{mol/L}$ 24 órán át). A sejteket a luciferáz assay kit (Promega, Madison, WI, USA) részét képező reporter lízis puffer segítségével izolálták a gyártó utasításainak megfelelően.

EREDMÉNYEK

1. Cél

A Szegedi Tudományegyetem 2. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ munkatársaival kooperációban (Dr. Sággy László, Dr. Pap Róbert), a krónikus pitvari gyors szívingerléssel kiváltott pitvarfibrilláció nagy állat modelljét sikeresen meghonosítottuk a Szegedi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetének *In Vivo* Elektrofiziológiai Laboratóriumában.

Jelen disszertáció szerzője alapvető szerepet játszott a krónikus pitvari gyors szívingerléssel kiváltott pitvarfibrilláció nagy állat modelljének létrehozásában és a témavezetője által vezetett laboratóriumban történt

meghonosításában. A laboratóriumban megvalósított pacemaker és pacemaker elektróda beültetések túlnyomó többségében, és a pitvarfibrillációs kísérletek kivitelezésében részt vett, és alapvető szerepet töltött be.

2. Cél

Az $I_{K,ACH}$ gátló tertiapin-Q, az I_{Kr} blokkoló dofetilid és az I_{Na} gátló propafenon hatásai a jobb pitvari effektív refrakter periódusra (PERP) éber kutyákon

A jobb pitvari gyors ingerlést megelőzően a jobb pitvari ERP értékei a következőképpen alakultak: $117 \pm 5,8$ és $127 \pm 6,4$ ms éber kutyákon ($n = 6$; 150 és 300 ms ciklushossz mellett). A krónikus gyors pitvari szívingerlés jelentősen csökkentette a jobb pitvari ERP-t. A PERP szignifikánsan és dóziszfüggően megnyúlt tertiapin-Q adagolás következtében mindkét ciklushosszon mérve; 150 ms ciklushossz mellett: $82,3 \pm 1,48$ ms kontrollban vs. $93,3 \pm 3,33$ ms ($n=6$, $p<0,05$), 18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ után, és $106,7 \pm 2,11$ ms ($n=6$, $p<0,05$) 56 $\mu\text{g}/\text{kg}$ után. A PERP-t szintén, szignifikáns mértékben nyújtotta a dofetilid. A propafenon esetében a PERP-t csak a nagyobb dózis növelte 150 ms-os ciklushossz mellett, míg mindkét dózis szignifikánsan megnyújtotta azt 300 ms ciklushosszon mérve.

A tertiapin-Q, dofetilid és propafenon hatásai pitvari „burst” stimuláció indukálta pitvarfibrillációra éber kutyákban

Egyetlen állatban sem tudtunk kiváltani pitvarfibrillációt 800/perc frekvenciájú pitvari ingerléssel a krónikus szívingerlést megelőzően. A tertiapin-Q infúziója dóziszfüggő módon és jelentősen csökkentette a jobb pitvari „burst” stimuláció indukálta pitvarfibrilláció incidenciáját ($90,2 \pm 1,89\%$ kontrollban vs. $12,4 \pm 8,69\%$ 18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ után, és $1,0 \pm 0,99\%$ 56 $\mu\text{g}/\text{kg}$ után [$n=6$, minden $p<0,05$]), a PF teljes időtartamát (\log_{10} teljes időtartam: $3,9 \pm 0,19$ kontrollban vs. $1,9 \pm 8,69$ 18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ után és $0,3 \pm 0,23$ 56 $\mu\text{g}/\text{kg}$ után [$n=6$, minden $p<0,05$]) és a pitvarfibrillációs epizódok átlagos időtartamát (\log_{10} átlagos időtartam: $2,3 \pm 0,25$ kontrollban vs. $0,7 \pm 0,32$ 18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ után, és $0,2 \pm 0,18$ 56 $\mu\text{g}/\text{kg}$ után [$n=6$, minden $p<0,05$]) éber kutyákon. A tertiapin-Q antiaritmias hatását ezt követően összehasonlítottuk a dofetilid és propafenon hatásaival, melyeket a klinikumban is használnak a pitvarfibrilláció kezelése során ritmuskontroll elérése céljából. Mind a

dofetilid, mind a propafenon csökkentette a PF incidenciáját, a PF teljes időtartamát, és a PF epizódok átlagos időtartamát. Ezen eredmények egyértelműen a tertiapin-Q kifejezett, éber kutyákon kifejtett antiaritmias hatásai mellett szólnak pitvarfibrilláció esetén. Ezen hatások a referencia szerek, dofetilid és propafenon ilyen hatásainál erősebbnek tűntek modellünkben.

A tertiapin-Q, dofetilid és propafenon QT intervallumra kifejtett hatásai éber kutyákban

Fontos kiemelni, hogy a tertiapin-Q egyetlen vizsgált dózisa sem nyújtotta a QT intervallumot éber kutyákban: $283,0 \pm 10,36$ ms kontrollban vs. $281,8 \pm 13,29$ ms ($n=6$, $p>0,05$) $18 \mu\text{g/kg}$ után, és $268,2 \pm 17,75$ ms ($n=6$, $p>0,05$) $56 \mu\text{g/kg}$ után. A dofetilid ($25 \mu\text{g/kg}$) szignifikánsan nyújtotta a QT intervallumot: $265,8 \pm 8,68$ ms kontrollban vs. $302,8 \pm 10,53$ ms dofetilid után ($n=6$, $p<0,05$). A propafenon a vizsgált dózisokban nem befolyásolta a QT intervallum időtartamát.

A tertiapin-Q, dofetilid és propafenon hatásai az akciós potenciál paraméterekre pitvarfibrilláló kutyákból izolált pitvari trabekulákon

Jobb pitvari trabekulákat izoláltunk az *in vivo* pitvarfibrillációs kísérletek befejezését követően kísérleti állatainkból, megfelelő kimosási idő elteltével. Minden mérést 500 ms ciklushossz alkalmazása mellett végeztünk. A tertiapin-Q szignifikánsan nyújtotta az akciós potenciál időtartamát a repolarizáció minden vizsgált százalékánál (APD_{25} , APD_{50} és APD_{90}) pitvarfibrilláló kutyákból izolált jobb pitvari trabekulákon. A tertiapin-Q (30 nM) nem befolyásolta a vezetési sebességet, az akciós potenciál amplitúdóját, a diasztolés potenciált. A dofetilid (100 nM) szignifikánsan nyújtotta az akciós potenciál időtartamát, de csak a repolarizáció 90% -án mérhető időtartamot. A dofetilid nem befolyásolta a vezetési időt, az akciós potenciál amplitúdóját, a diasztolés potenciált. A propafenon ($1 \mu\text{M}$) nem nyújtotta a pitvari akciós potenciált, nem változtatott az akciós potenciál amplitúdóján vagy a diasztolés potenciálon, de szignifikánsan növelte a vezetési időt.

A fenti eredményeket a tézisek alapját képező publikációk közül az I. és III. számú közlemények részletezik (Juhász és mtsai., 2017; Jost és mtsai. 2011).

3. Cél

A pitvarfibrilláció kialakulásában lehetséges szerepet játszó ioncsatornák és celluláris mechanizmusok párhuzamos modulálása: a Compound 1 (C1), egy új kísérleti molekula hatásainak vizsgálata éber kutya PF modellen

A pitvarfibrilláció kezelésére fejlesztett szerek túlnyomó többsége ioncsatorna gátló szer. Ugyanakkor, a pitvarfibrilláció kialakulásában és fenntartásában strukturális és egyéb, nem elektromos átépülési mechanizmusok („remodeling”) is kulcsszerepet játszanak. Így felmerült a patofiziológiás remodeling terápiás befolyásolása a pitvarfibrilláció hatékonyabb kezelése céljából. Az eddigi irodalmi adatok alapján, egy pitvarfibrilláció kezelésére alkalmazott ideális gyógyszernek a következő tulajdonságokkal kellene rendelkeznie: (i) $K_v1.5$ (I_{Kur}) gátlás frekvenciafüggő módon; (ii) $I_{K,ACH}$ blokk; (iii) $I_{Na,late}$ gátlás; (iv) I_{Kr} gátló hatás hiánya; (v) pitvar szelektív hatás: nem befolyásolja a kamrai repolarizációt és az elektromechanikai kapcsolatot; (vi) antioxidáns hatások; (vii) NFAT gátlás. Mindezek figyelembe vételével, egy új multifunkcionális, a rezveratrol szerkezetével rokon hatóanyagot állítottak elő a University of Alberta és University of Manitoba munkatársai, melynek részletes vizsgálata és karakterizálása munkacsoportunkkal kooperációban történt.

A C1 és az anyavegyület rezveratrol hatásai a pitvarfibrilláció kialakulásában szerepet játszó ionáramokra

Négy rezveratrol származék és a rezveratrol $K_v1.5$ áramra kifejtett hatásai kerültek összehasonlításra. A rezveratrol gyenge $K_v1.5$ gátló szernek bizonyult ($IC_{50}=66 \mu\text{mol/L}$). Kooperációs partnereink négy rezveratrol származékot állítottak elő, melyek közül C1 bizonyult a leghatékonyabb $K_v1.5$ gátlónak ($IC_{50} = 0.36 \mu\text{mol/L}$ és $0.11 \mu\text{mol/L}$ a csúcs áramérték és a késői áramérték gátlása tekintetében). A többi rokon vegyület (C2–C4) közepesen erős $K_v1.5$ csúcs áramérték gátló hatást mutatott (8,3; 10,9 és $11,2 \mu\text{mol/L}$). Mindezek alapján csak a C1 vegyület képezte a további vizsgálatok tárgyát. Patkány pitvarokból izolált izomsejtekben $I_{K,ACH}$ áramot

indukáltunk carbachol segítségével, és a C1 szignifikánsan gátolta a carbachol-indukálta patkány pitvari $I_{K,ACH}$ áramot (IC_{50} érték: 1,9 $\mu\text{mol/L}$). A C1 csúcs- és késői nátrium áramra való hatásainak vizsgálata kimutatta, hogy 3 $\mu\text{mol/L}$ koncentrációban a C1 a csúcs áramot 50%-os mértékben gátolta. A $Na_v1.5$ nátrium áram csúcs- és késői komponenseinek gátlásához felveendő koncentráció-hatás görbékhez a sejteket 3 nmol/L tengerirózsa toxinnal (ATX-II) kezelték, hogy a késői áram komponenszt indukálják és a C1 gátló hatását vizsgálják különböző koncentrációkban. Az eredmények szerint a C1 erősebben gátolta a késői nátrium áramot a csúcs nátrium áramhoz képest (IC_{50} értékek: 1,1 $\mu\text{mol/L}$ késői vs. 3,2 $\mu\text{mol/L}$ a csúcs áram esetén). A hERG (I_{Kr} , $K_v11.2$) gátlása ritmuszavarokat is kiváltó QT intervallum megnyúlást okoz, ezért, a C1 rekombináns rendszer hERG csatornáira kifejtett hatásait is tesztelték. A C1 a hERG csúcs- és farokáram gyenge gátlójának bizonyult (IC_{50} értékek: 30 és 25 $\mu\text{mol/L}$), és ezen értékek a $K_v1.5$ áram csúcs- és késői komponenseit gátló értékekhez képest megközelítőleg 100-szor magasabbak voltak.

A C1 antioxidáns és NFAT gátló hatásai

Az antioxidáns kezelés csökkentette a posztoperatív PF előfordulását betegekben, és az oxigén szabad gyökök közvetlenül aktiválják a $K_v1.5$ áramot. Mivel a rezveratrol jól ismert antioxidáns, a C1 antioxidáns hatásait összehasonlítottuk az anyavegyületével. 10 $\mu\text{mol/L}$ koncentrációban a rezveratrol és C1 szignifikáns antioxidáns hatásokat mutatott (a maximális DPPH 517 nm elnyelési szignál $0,59 \pm 0,04$ vs. $0,77 \pm 0,02$ része. 100 $\mu\text{mol/L}$ koncentrációban ezen értékek $0,09 \pm 0,02$ (rezveratrol) és $0,19 \pm 0,02$ (C1) voltak. Korábbi adatok szerint a rezveratrol gátolta a fenilefrin indukálta NFAT aktivációt, és az újszülött patkány szívizomsejtekben kialakuló kóros hipertrófiát mérsékelte. Így megvizsgáltuk ezen sejtekben a C1 NFAT aktivációra kifejtett hatásait. A C1 kezelés 0,1 $\mu\text{mol/L}$ és magasabb koncentrációi szignifikánsan csökkentették az NFAT aktivitást a kezelés nélküli sejtekhez viszonyítva, az IC_{50} érték pedig 1 $\mu\text{mol/L}$ -nek bizonyult. A C1 emellett szignifikánsan csökkentette az angiotenzin-II indukálta NFAT aktivációt is.

A C1 jobb pitvari effektív refrakter periódusra (PERP) és pitvarfibrillációra kifejtett hatásai éber kutyákon

A jobb pitvari effektív refrakter periódus értékei a gyors pitvari szívingerlés (400/perc) elkezdése előtt a következők voltak: $118 \pm 3,7$ és $130 \pm 3,2$ ms ($n = 5$; 150 és 300 ms ciklushossz mellett). A gyors pitvari ingerlés 6-7 hét elteltével jelentősen csökkentette a PERP értékeit. Minden vizsgált állatban a PERP 80 ms alá csökkent, mely értékeket 79 ms időtartamúnak definiáltunk a következő ok miatt: az S1–S2 intervallum legalacsonyabb beállítható értéke az általunk elérhető pacemakerekben 80 ms volt, így a PERP pontos értékét 7 hét gyors pitvari ingerlés után és a C1 adagolás előtt közvetlenül nem lehetett meghatározni (a mért PERP értékek 80 ms-nál alacsonyabbak voltak minden kutyában mindkét alkalmazott ciklushossz mellett, mivel a 80 ms-os S1–S2 intervallum képes volt P-hullámot kiváltani). A PERP C1 adagolást követően $87,5 \pm 2,50$ ms volt 150 ms ciklushosszon 4 állatban (egy állatban 80 ms-nál alacsonyabb volt) és $90 \pm 3,16$ ms volt 300 ms ciklushossz (BCL) mellett $0,3$ mg/kg C1 dózis beadása után. A PERP $90,0 \pm 3,16$ ms volt 150 ms BCL mellett, $100 \pm 3,16$ ms 300 ms BCL mellett, 1 mg/kg C1 beadását követően. A PF incidenciáját a vizsgált C1 dózisok nem befolyásolták ($86,4 \pm 6,4\%$ kontrollban vs. $71,2 \pm 15,7\%$ és $66,4 \pm 15,7\%$ $0,3$ és 1 mg/kg C1 adagolását követően, mindkét $p > 0,05$). Ugyanakkor a PF teljes időtartamát és a PF epizódok átlagos hosszát az 1 mg/kg C1 adagolás szignifikánsan csökkentette. A C1 intravénás beadását követő C1 vérplazma szintek (HPLC) a következő koncentráció tartományokba estek: $0,32$ – $0,79$ és $0,7$ – $3,0$ $\mu\text{mol/L}$ a $0,3$ és 1 mg/kg dózisokat követően. Fontos megjegyezni, hogy a vizsgált dózisok egyike sem nyújtotta a QT intervallumot éber kutyákon: $261,7 \pm 9,37$ ms kontrollban vs. $260,9 \pm 8,77$ ms ($p = 0,15$) $0,3$ mg/kg C1 és $257,3 \pm 9,05$ ms ($p = 0,55$) 1 mg/kg C1 beadása után.

A fenti eredményeket a tézisek alapját képező publikációk közül a II. számú közlemény részletezi (Baczkó és *mtsai.*, 2014).

DISZKUSSZIÓ

Óriási, és a mai napig kielégítetlen az igény a pitvarfibrilláció hatékonyabb és biztonságosabb kezelése iránt olyan gyógyszerekkel, melyek nem rendelkeznek kamrai szívelektrofiziológiai proaritmias mellékhatásokkal. A PF kezelésére jelölt vegyületek *in vivo* vizsgálata az esetek túlnyomó többségében gáz- vagy/és intravénás narkotikumokkal

altatott állatokon történik. Ezen altatószerek önmaguk is rendelkeznek relatíve jól ismert szívizom ioncsatorna hatásokkal, melyek jelentősen befolyásolhatják az említett antiaritmias vizsgálatok eredményeit. A tézisek alapját képező munkában a pitvarszelektív $I_{K,ACH}$ gátló tertiapin-Q és a több ioncsatornát gátló C1 hatásait szabadon mozgó, éber kutyákon vizsgáltuk. A kapott eredményeket összehasonlítottuk a dofetilid és propafenon, a pitvarfibrilláció kezelésére (ritmuskontroll) klinikailag is használt szerek adagolását követő eredményekkel. Ezen felül, az irodalomban elsőként megvizsgáltuk néhány fenti szernek az akciós potenciál konfigurációra és akciós potenciál paraméterekre kifejtett hatásait jobb pitvari trabekulákon, melyeket krónikus pitvari gyors szívingerlés által kiváltott pitvarfibrilláló kutyákból izoláltunk. A gyors pitvari szívingerlés kutyákon egy elfogadott nagy állat pitvarfibrillációs modell, melyet elektromos és szerkezeti pitvari átépülés („remodeling”) jellemez. Vizsgálatainkban az elektromos remodeling kialakulását a PERP fokozatos csökkenése révén követtük a krónikus gyors szívingerlés során.

Pitvarszelektív ioncsatorna moduláció és PF: az $I_{K,ACH}$ gátló tertiapin-Q hatásai PF-ra és az akciós potenciál konfigurációra átépült („remodellált”) pitvari trabekulákon

Pitvarfibrilláló éber kutya modellünkön a tertiapin-Q jelentősen és dóziszfüggő módon csökkentette a PF incidenciáját, a PF epizódok teljes és átlagos időtartamát, és ezen hatásokkal párhuzamosan a tertiapin-Q akut infúziója szignifikánsan nyújtotta a jobb pitvari ERP-t. Az akciós potenciálnak a repolarizáció minden százalékán mért szignifikáns megnyújtása lehet a felelős a PERP értékek növekedéséért ezen állatokból izolált jobb pitvari trabekulákban. A tertiapin-Q egy méhecske méregben előforduló peptid származék, mely igen szelektíven gátolja a GIRK (K_{ir3}) csatornákat, melyek az acetilkolin szenzitív $I_{K,ACH}$ káliumáram vezetéséért felelősek. Nervus vagus stimulációt követően a csatorna a muszkarinerg receptorok (M_2) közreműködésével aktiválódik, ami pitvari akciós potenciál időtartam rövidülést és fokozott pitvari repolarizációs diszperziót okoz. Mindezen változások arra utalnak, hogy a csatorna fontos szerepet játszik a PF aritmia szubsztrátjának kialakításában. Érdekes módon az $I_{K,ACH}$ expressziójának csökkenését („down-reguláció”) mutatták ki pitvarfibrilláló betegeken, ugyanakkor a muszkarin receptor aktivációjától független,

konstitutív komponensét is sikerült azonosítani ezen ionáramnak krónikus pitvarfibrillációban szenvedő betegekben. Irodalmi adatok szerint pitvari gyors szívingerléssel kiváltott kutya PF modellben is azonosították a konstitutív $I_{K,ACH}$ áramot. Az $I_{K,ACH}$ tertiapin-Q általi gátlása nyújtotta az akciós potenciál időtartamát és csökkentette a tachycardia (nem PF) indukálhatóságát tachycardia indukálta pitvarfibrilláló állapotokból izolált, koronária artéria perfundált bal kamrai pitvari preparátumokon. A fentiekkel összhangban a jelen tanulmányban jobb pitvari trabekulákban AP időtartam megnyúlást és *in vivo* antiaritmiás hatást tapasztaltunk a tertiapin-Q adagolását követően. Az $I_{K,ACH}$ blokkolása jótékonynak bizonyult más, korábbi PF állatmodelleken is – mint az akonitin és a nervus vagus stimuláció kiváltotta PF – ugyanakkor, ezekben a tanulmányokban az $I_{K,ACH}$ gátlás hatásait izoflurán és/vagy izoflurán+tiopentál anesztézia kombinált alkalmazása mellett vizsgálták. A tiopentál szignifikánsan és koncentrációfüggő módon nyújtotta a PERP értékeket és növelte a pitvari hullámhosszat tengerimalac szívekben, illetve az izoflurán kutya pitvarokon pitvarfibrillációt kivédő hatásokat produkált. Bár az $I_{K,ACH}$ kis mértékben a kamrákban is kimutatható, fontos eredmény, hogy a tertiapin-Q nem nyújtotta a QT intervallum hosszát éber kutyákon a jelen vizsgálatok során, arra utalva, hogy az $I_{K,ACH}$ gátlást követően nem várható a kamrai repolarizáció gátlása miatti kamrai ritmuszavarokat provokáló mellékhatás kialakulása.

Összefoglalva, a szelektív $I_{K,ACH}$ gátló tertiapin-Q szignifikánsan csökkentette a PF incidenciáját, mérsékelte a PF epizódok időtartamát és nyújtotta a pitvari effektív refrakter periódust krónikus pitvari gyors szívingerléssel indukált pitvari átépüléssel („remodeling”) rendelkező éber kutyákon. A modellben hasonló, de kevésbé kifejezett hatásokat fejtett ki a PF-ra és a PERP-re az IC antiaritmiás osztályba sorolt propafenon, a III. osztályba sorolt dofetilid, mely szereket a PF kezelése során is alkalmazzák a klinikumban. Fontos kiemelni, hogy a tertiapin-Q nem nyújtotta a QT intervallumot, mely arra utal, hogy a PF ellenes jótékony hatásait nem kísérik kamrai repolarizációt gátló mellékhatások. Így a szelektív $I_{K,ACH}$ gátlók ígéretes pitvari szelektivitással rendelkező szerek lehetnek a PF jövőbeli kezelése során.

A PF hatékonyabb kezelésének másik lehetséges útja: több, a PF kialakulásában szerepet játszó ioncsatorna és celluláris mechanizmus párhuzamos modulációja - a C1, egy új rezveratrol származék hatásai

Az $I_{Kur}/K_v1.5$ repolarizáló kálium csatorna gátlása, mely a kamrákkal szemben elsősorban a pitvarokban expresszálódik, az elmúlt évek egyik ígéretes célpontja a PF kezelése kapcsán. A C1 ezen ioncsatorna hatékony gátlójának bizonyult. A számított $K_v1.5$ csatorna IC_{50} értékek a 0,11–0,36 $\mu\text{mol/L}$ tartományba estek a késői és csúcs $K_v1.5$ áram gátlására vonatkozóan, és ezen értékek 180-600-szor alacsonyabbak voltak, mint az anyavegyület, a rezveratrol esetén (66 $\mu\text{mol/L}$). A csúcs nátrium áram frekvenciafüggő gátlása szintén hasznos stratégia lehet a PF kezelése során a korai akciós potenciálok és a PF előfordulásának csökkentésével. A fokozott késői $Na_v1.5$ áram nem csak a korai utódepolarizáció kiváltotta ritmuszavarok kockázatát emeli, hanem a sejtek nátrium és következményes kalcium túltelítődését is okozhatja, mely a calcineurin-mediálta NFAT gén transzkripciósi jelátviteli útvonal aktiválásához, és a PF-ban is megfigyelt kóros szívizomhipertrófiás átépüléshez („remodeling”) vezet. Az eredmények szerint a rezveratrolnál hatékonyabban gátolta a C1 a $Na_v1.5$ áram mindkét, késői és csúcs komponensét. Az I_{Kr} (hERG) gátlás az akciós potenciál időtartam extrém mértékű megnyúlásához és súlyos kamrai aritmiákhoz (TdP) vezethet. Fontos megjegyezni, hogy a C1 csak gyengén gátolta a hERG áramot, és nem befolyásolta a QT intervallumot éber kutyaon. A PF kialakulásában és fenntartásában szerepet játszó celluláris mechanizmusok vizsgálata rámutatott, hogy a C1 megtartotta az anyavegyület, a rezveratrol antioxidáns és NFAT gátló hatásait. A krónikus pitvari gyors szívingerlés indukálta pitvarfibrillációs *in vivo* éber kutya modellünkben a C1 növelte a PERP értékét és szignifikánsan csökkentette a PF epizódok időtartamát. Eredményeink szerint a multifunkcionális C1 jótékony hatásokat fejthet ki a pitvarfibrilláció egyes formáinak kezelése során.

KÖVETKEZTETÉSEK, ÚJ EREDMÉNYEK

1. Jelen tézisek szerzője klinikus kollégáinkkal együttműködésben kulcsszerepet játszott a krónikus jobb pitvari szívingerléssel kiváltott pitvarfibrilláció nagy állat modelljének az SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetében történt meghonosítása terén. Ez a modell alkalmasnak bizonyult a pitvarfibrilláció kezelésére fejlesztett, új gyógyszerjelölt vegyületek *in vivo* vizsgálatára, emellett alapvetően fontos szívizom mintákat szolgáltat a pitvarfibrilláció kialakulásáért és fenntartásáért felelős mechanizmusok *in vitro* vizsgálatához.
2. Eredményeink szerint a szelektív $I_{K,ACh}$ gátló tertiapin-Q szignifikánsan csökkentette a PF incidenciáját, mérsékelte a PF epizódok időtartamát, nyújtotta a PERP hosszát krónikus pitvari gyors szívingerléssel indukált pitvari átépüléssel („remodeling”) rendelkező éber kutyákon. Hasonló, de kevésbé kifejezett hatásokat fejtett ki a PF-ra és a PERP-re az IC osztályú propafenon, és a III. osztályba sorolt dofetilid, melyeket a PF kezelése során is alkalmaznak a klinikumban. Kiemelendő, hogy a TQ nem nyújtotta a QT intervallumot, mely arra utal, hogy a PF ellenes jótékony hatásait nem kísérik kamrai repolarizációt gátló mellékhatások. A szelektív $I_{K,ACh}$ gátlók ígéretes pitvari szelektivitással rendelkező szerek lehetnek a PF jövőbeli kezelése során.
3. Pitvarfibrilláló kutyákból izolált jobb pitvari trabekulákon a pitvari AP időtartamát a TQ és a dofetilid nyújtotta, míg a propafenon nem befolyásolta, de növelte a pitvari vezetési időt. A repolarizáció megnyújtása és az ingervezetés lassítása megelőzheti a pitvari „reentry” kialakulását a fent vizsgált anyagok adagolását követően.
4. Egy új, kis molekulatömegű rezveratrol származék (C1), melyet kollégáink fejlesztettek ki a University of Alberta (Edmonton, Kanada) laboratóriumaiban, hatásosnak bizonyult *in vivo* éber kutya PF modellünkben. Hatásai a PF kialakulásában és fenntartásában szerepet játszó több ionsatorna és celluláris mechanizmus párhuzamos modulálásának előnyös kombinációján alapul. A fentieknek megfelelően a C1 kiindulási vegyülete lehet a több támadásponttal rendelkező, pitvarfibrilláció hatékonyabb kezelésére fejlesztett gyógyszerjelölt hatóanyagoknak.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném hálás köszönetemet kifejezni **Prof. Dr. Varró Andrásnak**, a SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet vezetőjének, hogy lehetővé tette számomra az intézetben végzett kutató- és oktatómunkát, valamint köszönöm a felmerülő kérdéseket megválaszolóló világos tanácsait.

Köszönöm témavezetőmnek, **Dr. Baczkó Istvánnak** sokéves – az egyetemi szakdolgozat írása óta tartó - szakmai irányítását és a tudományterület alapjainak és új információinak rendszerező és naprakész átadását.

Köszönöm **Prof. Dr. Papp Gyula** akadémikus úrnak, intézetünk előző vezetőjének, a mai napig tartó tudományos és emberi példamutatását.

Köszönöm **Györfiné Kosztká Máriának** a kiváló asszisztenciát és barátságát. Köszönettel tartozom **Tábori Katalinnak**, **Dr. Orosz Andreának**, **Dr. Hornyik Tibornak**, **Dr. Husti Zoltánnak** és **Dr. Márton Zoltánnak**, akik nélkül elképzelhetetlenek lettek volna a dolgos hétköznapok.

Köszönöm **Dr. Sággy Lászlónak** és **Dr. Pap Róbertnek**, a II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ szakorvosainak, hogy laborunknak segítséget nyújtottak a pacemaker implantációs műtétek és azok betanítása során.

Köszönöm **Dobai Gábor** és **Tajti István** állatgondozóknak az állatmodell természetéből fakadó esetleges nehézségek közös megoldását.

Köszönöm **Baczkó Gabriellának** és **Vad Gabriellának** az adminisztrációs és hivatali ügyintézési segítségnyújtást.

A Farmakológiai Intézet **kutatóinak**, **oktatóinak**, és **dolgozóinak**.

Szüleimnek, Öcsémnek, Nagyszüleimnek, Barátaimnak.

Anyagi támogatás

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos munkát a Nemzeti Kutatási és Innovációs Hivatal (NKFI-K119992 és NKFI-GINOP-2.3.2-15-2016-00040), a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült. Dr. Juhász Viktor jelölt részleges fizetési támogatásban részesült a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0012 és TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0035 projektekből.



Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar
 Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
 Igazgató: Prof. Dr. Varró András
 6720 Szeged, Dóm tér 12.
 Tel.: (62)545-682
 Fax: (62)545-680
 E-mail: varro.andras@med.u-szeged.hu

SZTE Általános Orvostudományi Kar
 Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
 MTA-SZTE Keringéscsökkentő Farmakológiai Kutatócsoport
 6720 Szeged, Dóm tér 12.

NYILATKOZAT KÖZLEMÉNYBEN VALÓ MEGOSZTOTT RÉSZVÉTELÉRŐL

Alulírott, Dr. Jost Norbert, tudományos főmunkatárs, mint felelős szerző igazolom, hogy Dr. Juhász Viktor, az SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet PhD hallgatója (témavezető: Dr. Baczkó István), az alábbi közlemény 11. ábrájának B panelén (3688. oldal) feltüntetett eredmények alapjául szolgáló *in vivo*, éber kutya pitvarfibrillációs kísérleteket és azok kiértékelését elvégezte, így ezen eredményeket felhasználhatja PhD értekezéséhez. Ezen eredmények nem kerülnek felhasználásra más PhD értekezésben.

Jost N, Kohajda Zs, Kristóf A, Kovács PP, Husti Z, Juhász V, Kiss L, Varró A, Virág L, Baczkó I. Atrial remodeling and novel pharmacological strategies for antiarrhythmic therapy in atrial fibrillation. *Current Medicinal Chemistry*, 2011, 18(24): 3675-3694. doi: 10.2174/092986711796642373. PMID: 21774760.

Szeged, 2017. május 23.



Dr. Jost Norbert
 tudományos főmunkatárs



Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar
 Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
 Igazgató: Prof. Dr. Varró András
 6720 Szeged, Dóm tér 12.
 Tel.: (62)545-682
 Fax: (62)545-680
 E-mail: varro.andras@med.u-szeged.hu

SZTE Általános Orvostudományi Kar
 Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
 6720 Szeged, Dóm tér 12.

NYILATKOZAT KÖZLEMÉNYBEN VALÓ MEGOSZTOTT RÉSZVÉTELÉRŐL

Alulírott, Dr. Baczkó István, egyetemi docens, mint felelős szerző igazolom, hogy Dr. Juhász Viktor, az SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet PhD hallgatója (témavezető: Dr. Baczkó István), az alábbi közlemény eredményei alapján szolgáló *in vivo*, éber kutya pitvarfibrillációs kísérleteket, és azok kiértékelését elvégezte, így ezen eredményeket felhasználhatja PhD értekezéséhez. Ezen eredmények nem kerülnek felhasználásra más PhD értekezésben.

Baczkó I, Liknes D, Yang W, Hamming KC, Searle G, Jaeger K, Husti Z, Juhász V, Klausz G, Pap R, Saghy L, Varro A, Dolinsky V, Wang S, Rauniyar V, Hall D, Dyck JR, Light PE. Characterization of a novel multifunctional resveratrol derivative for the treatment of atrial fibrillation. *British Journal of Pharmacology*, 2014, 171(1): 92-106. doi: 10.1111/bph.12409. PMID: 24102184.

Szeged, 2017. június 6.



Dr. Baczkó István
 Dr. Baczkó István
 egyetemi docens