

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

dr. Kovács Zsigmond Máté

**A szívizom nátriumáramainak faj-, és káliumáramainak
 β -adrenerg függése**

DEBRECENI EGYETEM

MOLEKULÁRIS ORVOSTUDOMÁNY DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2025

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

A szívizom nátriumáramainak faj-, és káliumáramainak

β -adrenerg függése

dr. Kovács Zsigmond Máté

Témavezető: Prof. Dr. Bányász Tamás



DEBRECENI EGYETEM

MOLEKULÁRIS ORVOSTUDOMÁNY DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2025

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék.....	3
Rövidítések jegyzéke	5
1. Bevezetés.....	7
2. Irodalmi áttekintés	8
2.1 A bal kamrai szívműködés akciós potenciálja és ionáramai	8
2.2 A szívműködés β -adrenerg szabályozása	11
2.3 A kalcium szerepe a szívműködésben.....	14
2.4 A késői nátriumáram ($I_{Na, late}$).....	15
2.4.1 A feszültségfüggő nátriumcsatorna	15
2.4.2 A $I_{Na, late}$ -et létrehozó mechanizmusok	16
2.4.3 A késői nátriumáram szerepe a szív elektromos aktivitásában.....	18
2.4.4 A szív elektromos aktivitásának hatása a késői nátriumáramra.....	19
2.5 A késői egyenirányító káliumáram gyors komponense (I_{Kr}).....	20
2.5.1 A feszültségfüggő káliumcsatornák	20
2.5.2 Az I_{Kr} elektrofiziológiai tulajdonságai	21
2.5.3 Az I_{Kr} áram működését módosító hatások	22
2.6 A befelé egyenirányító káliumáram (I_{K1})	22
2.6.1 A befelé egyenirányító kálium csatorna	22
2.6.2 Az I_{K1} szerepe a szívműködés elektrofiziológiájában	23
2.6.3 A befelé egyenirányító káliumáram működését befolyásoló tényezők	24
2.7 A kamrai szívműködés ionáramainak fajok közti különbségei.....	24
3. Célkitűzés	28
3.1 Késői nátriumáramprofilok és konduktancia vizsgálata kutya, nyúl és tengerimalac modellen.....	28
3.2 A befelé egyenirányító, és a gyors késői egyenirányító káliumáramok CaMKII útvonal általi β -adrenerg aktivációja	29
4. Anyagok és módszerek	30
4.1 Kamrai szívműködés izolálása	30
4.2 Elektrofiziológia.....	33
4.3 Ionáram mérés konvencionális feszültség clamp módszerrel.....	34
4.4 Ionáram mérés akciós potenciál feszültség clamp módszerrel (APVC)	35
4.5 A “hagymahámozás” (onion-peeling) módszer	37
4.6 Statisztika	37
5. Eredmények.....	38

5.1	A késői nátriumáram-profil és konduktancia változásai kutya, nyúl és tengerimalac szívműködéseken.....	38
5.1.1	Natív $I_{Na,late}$ profilok kontroll körülmények között.....	38
5.1.2	A parancsjel alakjának hatása a késői nátriumáramra.....	42
5.1.3	A kalcium szerepe a késői nátriumáram szabályozásában.....	43
5.1.4	Az ATX-II hatása kutya és tengerimalac szívműködésekre.....	45
5.2	Kutyaszív bal kamrai izomszéljeinek befelé egyenirányító káliumáramának CaMKII útvonal általi β -adrenerg aktivációja:	47
5.2.1	Az I_{K1} paramétereinek változása az akciós potenciál alatt.....	47
5.2.2	β -adrenerg hatás, fókuszban az AP plató.....	50
5.2.3	β -adrenerg stimulált I_{K1} konvencionális voltage clamp-pel.....	52
5.2.4	Az I_{Kr} és a β -adrenerg stimuláció.....	54
6.	Megbeszélés	55
6.1	A késői nátriumáram tulajdonságainak fajok közti különbségei.....	55
6.1.1	A nátriumcsatornák konduktanciájának fajfüggése.....	55
6.1.2	Az $I_{Na,late}$ és az akciós potenciál kapcsolata.....	56
6.1.3	Az $I_{Na,late}$ aritmogén hatása.....	56
6.1.4	Az ATX-II által létrehozott ionáram tulajdonságai tengerimalac és kutya szívműködéseken.....	57
6.2	A β -adrenerg stimuláció hatása a kamrai szívműködések káliumáramaira.....	57
6.2.1	A CaMKII útvonal felelős a β -adrenerg hatások kialakításáért az I_{K1} esetében.....	57
6.2.2	A β -adrenerg stimuláció az I_{K1} -et is csak részben befolyásolja.....	59
6.2.3	A β -adrenerg serkentés nincs hatással az I_{Kr} -re.....	60
7.	Összefoglalás.....	62
8.	Summary	63
9.	Irodalomjegyzék	64
10.	Kulcsszavak.....	85
11.	Keywords	85
12.	Köszönetnyilvánítás.....	86
13.	Függelék.....	87

Rövidítések jegyzéke

$[Ca^{2+}]_i$	intracelluláris kalcium koncentráció
AP	akciós potenciál
APD	akciós potenciál időtartam
APD _x	az AP csúcsától az AP maximális amplitúdójához képest mért x%-os repolarizációig eltelt időtartam
APVC	akciós potenciál feszültség clamp
ATX-II	Anemonia viridis toxin 2
BAPTA	1,2-Bisz(2-aminofenoxi)etán-N,N,N',N'-tetraecetsav
BM	burst mód
CaM	kalmodulin
CaMKII	kalcium-kalmodulin függő protein kináz II
cAMP	ciklikus adenzin monofoszfát
CICR	kalcium indukálta kalcium felszabadulás
DAD	késői utódepolarizáció
DAG	diacil glicerol
E-4031	N-[4-[[1-[2-(6-Metil-2-piridinil)etil]-4piperidinil]karbonil]fenil] metánszulfonamid dihidroklorid
EAD	korai utódepolarizáció
EGTA	etilén glikol-bis(β-aminoetil éter)-N,N,N',N'-tetraacet ecetsav
EPAC	cAMP aktivált GTP cserét elősegítő fehérje
G _{Na,late}	a nátriumcsatorna késői áramkomponenshez tartozó konduktanciája
H-89	N-(2-[[[(2E)-3-(4-Bromopenil)prop-2-en-1-yl]amino}etil]isoquinolin-5-sulfonamid
HEPES	4-(2-hidroxietil)-1-piperazinétánkén sav
I _{Ca,L}	L-típusú kalciumáram
I _{K1}	befelé egyenirányító káliumáram
I _{Kr}	késői egyenirányító káliumáram gyors komponense
I _{Ks}	késői egyenirányító káliumáram lassú komponense
I _{Kur}	késői egyenirányító káliumáram ultragyors komponense
I _{Na,early}	feszültségfüggő nátriumáram gyors komponense
I _{Na,late}	késői nátriumáram

I_{NCX}	nátrium-kalcium csereáram
IP_3	inozitol trifosztát
I_{to1}	tranziens outward káliumáram
I_{to2}	Ca^{2+} -függő kloridáram
ISO	isoproterenol
JMM	Joklik által módosított Minimum Essential Medium
K_{ir}	befelé egyenirányító káliumcsatorna
K_v	feszültségfüggő káliumcsatorna
KN-93	2-[N-(2-hidroxietil)]-N-(4-metoxibenzénesulfonil)]amino-N-(4-chlorocinnamil)-N-metilbenzilamin)
LAD	bal elülső leszálló koszorúér (left anterior descending artery)
LSM	late scattered mód
MgATP	magnézium adenzin trifoszfát
Na_v	feszültségfüggő nátriumcsatorna
NKP	nátrium-kálium pumpa
PI3K	foszfoinozítid 3-kináz
PIP_2	foszfoinozitol 4,5-bifoszfát
PKA	protein-kináz A
PKC	protein-kináz C
PLC	foszfolipáz C
RyR_2	rianodin receptor szív izoforma
SERCA	szarkoplazmatikus/endoplazmatikus retikulum Ca^{2+} -ATP-áz
SR	szarkoplazmatikus retikulum
TGF- β	tumor növekedési faktor β
TM	tranziens mód
TTX	tetrodotoxin

1. Bevezetés

A szívizomsejtek működését koordináló ioncsatornák pontos szabályozása mindmáig széleskörben kutatott téma. Ugyan az évek során sok ezzel kapcsolatos megfigyelés született [1], azonban továbbra is rengeteg megválaszolatlan kérdés maradt a szívizomsejtek elektromos tevékenységével kapcsolatban. Egy érdekes tény például, hogy bár minden gerinces faj kamrai izomzatában, esetenként jelentős eloszlásbeli különbségekkel, de ugyanazok az ionáramok alakítják ki a sejtek működéséhez nélkülözhetetlen akciós potenciált, az egyes ionáramok profilja és kinetikája a kutatásra használt modellállatok között is jelentős eltéréseket mutatnak [2,3]. Emiatt a legtöbb szívelektrofiziológiában használt modellből nyert eredményeket csak megfelelő mérlegeléssel használhatjuk farmakológiai vizsgálatokra. Éppen ezért szükséges a különböző modellek egymáshoz, és főleg az emberi szívizomsejtekhez hasonlítása. Emellett az akciós potenciált kialakító áramok nem csak az egyes fajok között térnek el, de ugyanazon egyedben belül is, bizonyos ingerek hatására, vagy funkcionális állapottól függően megváltozhatnak. Az egyik legfőbb befolyásoló tényező a szívizom β -adrenerg szabályozása. Ugyan a szívizomsejtek membránján kialakuló akcióspotenciál és az azt létrehozó nátrium, kálium, kalcium és klorid áramok tulajdonságai már részletekbe menően leírásra kerültek és azt is tudjuk, hogy a szívizom egészére hogyan hat a β -adrenerg útvonal aktivációja, de ennek a pontos molekuláris hátterét továbbra is homály fedi. Az előbb leírtak okán, disszertációm két kutatási téma köré építettem fel. Egyrészt, munkám során összehasonlítottam a szívizomsejtek egyik fontos depolarizáló áramának, a késői nátrium áramnak a tulajdonságait három gyakran használt modellben, kutya, nyúl és tengerimalac szívizomsejtekben. Emellett vizsgáltam a kutya kamrai szívizomsejtek két, terminális repolarizációban létfontosságú káliumáramának a késői egyenirányító káliumáram gyors komponensének, és a befelé egyenirányító káliumáramnak a változását β -adrenerg serkentés, és a β -adrenerg jelátvitel két fő útvonalának, a kalcium-kalmodulin függő protein kináz II-nek (CaMKII) és a protein-kináz A-nak (PKA) a gátlása mellett is.

2. Irodalmi áttekintés

2.1 A bal kamrai szívmembránok akciós potenciálja és ionáramai

Az élő sejtek membránjának extra- és intracelluláris oldalai között potenciálkülönbség van, ezt nyugalmi membránpotenciálnak hívjuk, melynek értéke sejttípusonként eltérő. Ezt a potenciálkülönbséget azon ionok eloszlásbeli különbségei hozzák létre, melyekre a membrán permeabilitása nem zérus. Emellett egyes sejteken bizonyos ingerek hatására ioncsatornák nyílhatnak meg, melyek térben és időben összehangolt működésükkel megváltoztatják a membránpotenciált, akciós potenciált kialakítva (1. ábra). Ezen sejtek az ún. ingerlékeny sejtek, mint pl. a szív bal kamrájának izomsejtjei is.

A kamrai szívmembránokon kialakuló akciós potenciált (AP) öt fázisra (0-4. fázis) oszthatjuk fel (1. ábra). A fázisokat különböző ionáramok alakítják ki, és tartják fent [1]. Ezek jelenléte és alakja fajoként, sőt a szíven belül, regionálisan is eltérő, ezzel különböző formájú AP-kat kialakítva. Az ionáramok AP alatti lefutását alapvetően az aktuális membránpotenciál, és a csatornák áteresztőképessége, vagyis konduktanciája határozza meg. A csatornák konduktanciájának változása kóros állapotokban az ionáramok nagyságának változásához, így az AP alakjának módosulásához vezet, ami különböző szívritmuszavarok formájában nyilvánulhat meg. Ilyen például a Brugada szindróma, ami a nátriumcsatornák konduktanciájának csökkenéséből kiinduló ingerületvezetési zavar [4].

A 0. fázis elején a membrán depolarizálódásának hatására gyors, feszültségfüggő Na^+ csatornák nyílnak meg, kialakítva a korai nátriumáramot ($I_{\text{Na,early}}$), és létrehozva az AP felszálló szárát. Ez egy kifejezetten nagy sűrűségű áram, az azt kialakító, sejtmembránban található Na_v csatornák nagy száma miatt. Ekkor a membránpotenciál 0 mV fölé emelkedik, ezzel aktiválva az AP további fázisaiért felelős áramokat.

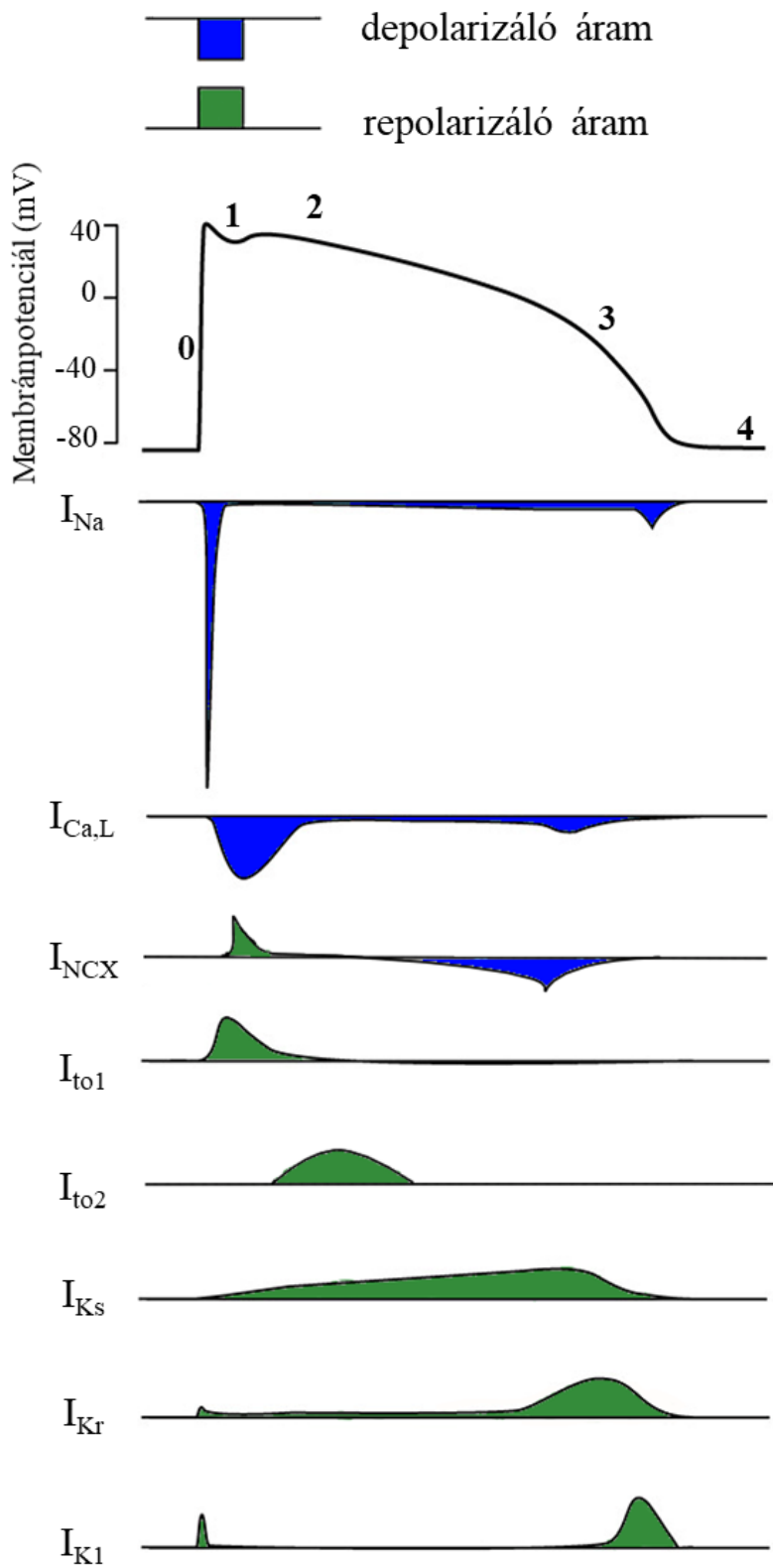
Az 1. fázis egy rövid, részleges repolarizáció, amit a tranziens kifelé irányuló áram két (egy kálium és egy klorid áram) komponense (I_{to1} és I_{to2}) hoz létre. A fázis végén aktív L-típusú kalcium áram ($I_{\text{Ca,L}}$) megakadályozza a teljes repolarizációt, esetenként ismét depolarizálja a sejtmembránt.

A 2. fázis során, amit platónak is nevezünk, a $I_{\text{Ca,L}}$ továbbra is aktív, ekkor éri el áramsűrűségének maximumát. Bár a késői káliumáramokat létrehozó csatornák már a kezdeti depolarizáció hatására megnyílnak, az áramok sűrűsége csak ekkorra éri el maximumát. Mivel a kifelé áramló kálium-ionok egyensúlyi potenciálja jóval negatívabb (-90 mV) az AP ezen

szakaszának aktuális membránpotenciáljánál, a befelé áramló kalcium-ionoké pedig pozitívabb (+134 mV), így nagyjából egyenlő mennyiségű töltés áramlik a membránon keresztül, ezért nincs kifejezett de- vagy repolarizáció az AP ezen szakaszán. Ebben a fázisban az inaktiválódott nátrium-csatornák egy része zárt állapotba kerül. Ezek a csatornák a jelenleg depolarizált membrán hatására újra megnyílhatnak, ezzel kialakítva a késői nátriumáramot ($I_{Na,late}$). Ilyenkor aktív a nátrium-kalcium csereáram forward módja is (I_{NCX}), ami a sejtben felgyűlt kalcium extracelluláris oldal felé történő eltávolításáért felel.

A 3. fázisra a $I_{Ca,L}$ inaktiválódik, így a késői egyenirányító káliumáram gyors (rapid) és bizonyos körülmények között a lassú (slow) komponense (I_{Kr} ; I_{Ks}) valamint az újra emelkedő aktivitású, egyébként a nyugalmi membránpotenciál fenntartásáért felelős befelé egyenirányító káliumáram (I_{K1}) repolarizálja a sejtmembránt. A késői egyenirányító káliumáram az előbbi kettő mellett rendelkezik egy harmadik, ultragyors komponenssel is (I_{Kur}), de ennek eddig csak pitvari szívizomsejteken tulajdonítottak jelentőséget.

A 4. fázis az elektromos diasztole szakasza, amit a I_{K1} hoz létre és tart fenn, ekkor a nyugalmi membránpotenciál, kamrai szívizomsejtek esetében -80 mV körüli. [5]



1. ábra: A kamrai szívizomsejtek akciós potenciálja, annak fázisai, valamint az azt kialakító főbb ionáramok. A nulla vonal alatti, kék jelölések „inward”, a nulla vonal feletti, zölddel jelölt területek pedig „outward” áramokat, áram komponenseket mutatnak [6].

2.2 A szívizom β -adrenerg szabályozása

A szervezetet érő stresszhatásokhoz a szív szövetei elsősorban a szimpatikus idegrendszer aktivitásának hatására alkalmazkodnak. A szimpatikus aktiválás a szívizomsejtek és az ionáramaik aktivitásának, ezzel akciós potenciáljuk alakjának, kalciumhomeosztázisának és kontraktilitásának megváltozásához vezet. Ezek a hatások gyorsítják a szívritmust, növelik a perctérfogatot, illetve az ingerületvezetés és a relaxáció sebességét, röviden pozitív tróphatásokhoz vezetnek. A β -adrenerg stimuláció a szívizomsejteken G-fehérje kapcsolt 7-transzmembrán receptorok szupercsaládjába tartozó adrenerg receptorokon keresztül jön létre [7]. Az adrenerg receptorok farmakológiai interakcióik alapján α és β receptorokra oszthatók, amik működésük alapján további alcsoportokba sorolhatók [8]. Szívizomsejteken α_1 és a β receptorok több alcsoportja található meg, a β -receptorok jóval nagyobb arányban, mint az α_1 receptorok.

A β -receptorok közül elsősorban a β_1 és β_2 -formák lelhetőek fel egészséges szíven, β_3 -receptort csak szívelégtelenség okán átépült szívizomból mutattak ki [9]. A β -receptorok Gs fehérjéken keresztül növelik a sejtek adenilát-cikláz aktivitását. Emellett aktiválják még a foszfolipáz C/protein kináz C (PLC/PKC), a CaMKII, az EPAC és a PI3K útvonalakat, befolyásolják továbbá a NO szintázokat, és a TGF- β szignalizációt is [9] (2. ábra).

A β -receptorok a cAMP/PKA útvonalat a sejt adenilátcikláz aktivitásának növelésén keresztül serkentik. Ennek következtében megnő az intracellulláris cAMP szint, ami pedig aktiválja a protein kináz A (PKA) enzimet. Ez számos folyamatot (génátírást, sejtciklust, sejtanyagcserét) befolyásol. Két típusát különböztethetjük meg, a PKA1-et és a PKA2-t. Míg előbbi a citoplazmában szabadon megtalálható, az utóbbi membránhoz kötött, így a sejt membránjaiban megtalálható csatornafehérjék foszforilációjáért elsősorban ez felel. Foszforilációval aktiválja többek között a szívizomsejtek SR membránjának rianodin receptorát (RyR₂) [10], ezzel növelve a sejtek citoplazmájának kalciumtartalmát. Emellett gátló hatással van a β_2 -receptorokra [11], de a K_v1.4, 4.2 és 4.3 csatornafehérjék foszforilálásával csökkenti az I_{to} áramot is [12].

A széleskörben alkalmazott β -receptor agonista, az isoproterenol nagy koncentrációban (1 μ M) alkalmazva csökkenti a tengerimalac kamrai szívizomsejtek [13] és kutya purkinje sejtek [14] I_{K1} áramát, viszont kis koncentrációt (10 nM) alkalmazva növelte azt rágszáló szívizomsejteken [15]. A PKA útvonal szerepe nem teljesen tisztázott az I_{K1} áram befolyásolásában. Fakler és munkatársai kutatásai arra az eredményre jutottak, hogy a Xenopus oocitán expresszált K_{ir}2.1 csatornán átfolyó I_{K1} áram szignifikáns növekedést mutat a PKA

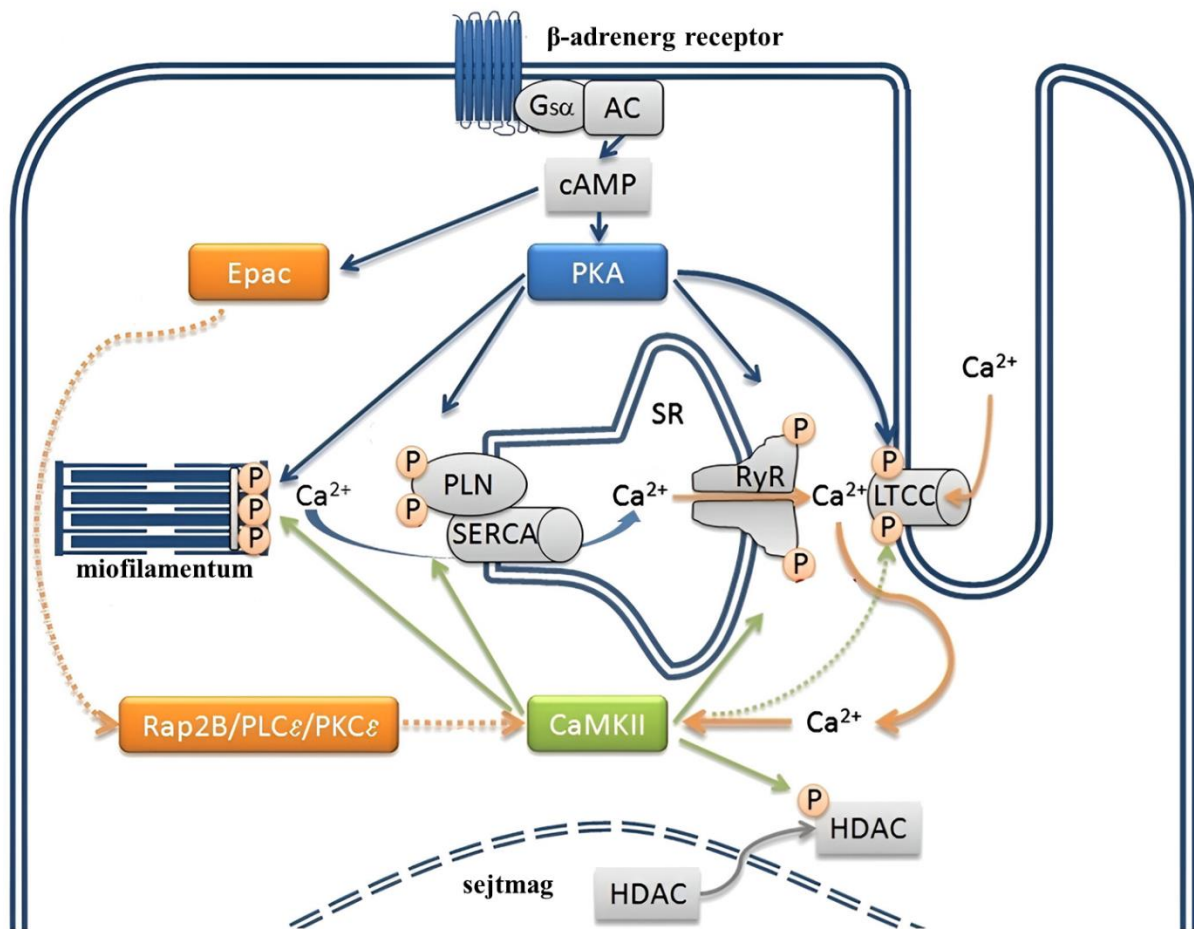
katalitikus alegységének hozzáadása után [16]. Kalscheur és munkatársai hasonló eredményre jutottak; COS-1 sejteken expresszáltak $K_{ir}2.1$ csatornákat, majd egy forskolint, 3-izobutil-1-metilxantint tartalmazó keverékkel serkentették a sejtek PKA működését, ami mind rövid, mind hosszútávú serkentés után növelte a csatornákon átfolyó áramot -60 mV-os membránpotenciál érték mellett [17]. Ezen eredményekkel szemben Vega és társai ugyanezen modellen és membránpotenciálon, ugyanezzel a PKA aktiválással csökkenést tapasztaltak az I_{K1} áramsűrűségében [18]. Wischmeyer és társai szintén az I_{K1} jelentős csökkenését tapasztalták amikor az általuk használt $K_{ir} 2.1$ -et expresszáló sejtek belsejébe PKA katalitikus alegységet juttattak a patch pipettába töltött oldaton keresztül [19]. Emellett a PKC útvonal szerepe is vitatott, több kutatás szerint gátló hatással van az I_{K1} -re [16,20,21] egy közlemény szerint viszont növeli azt [22].

Kutya szívizomsejtek I_{K1} -ét az ISO és a PKA-aktivátorok növelték, amely hatás PKA-inhibitorok jelenlétében megszűnt [23]. Ezzel összhangban, az ISO és az adenilát-cikláz aktivátor forskolin növelte az I_{K1} -t tengerimalac szívizomsejtekben. Ezen hatásokat mind a PKA, mind a PKC gátlása, valamint az $[Ca^{2+}]_i$ BAPTA-AM vagy nifedipin általi csökkentése befolyásolta [24]. Ezzel szemben mind a $\beta 1$ -receptor-aktiválás [20], mind a foszfodiészteráz-gátlás csökkentette az I_{K1} -t tengerimalac-miocitákban [25].

Fiziológiás esetben az emberi kamrai izomsejtekben a β -adrenerg hatás ezen, és a később tárgyalt PLC jelátviteli útvonalon keresztül serkenti az I_{Ks} -t, az I_{K1} -et és az I_{K1} -t is, bár ez a hatás ebben a sorrendben egyre kisebb [26]. Az is leírásra került, hogy szívelégtelenség modellben a mindhárom káliumáramot érintő serkentő hatás szinte eltűnik, ezzel jelentősen csökkentve a szívizomsejtek repolarizációs rezervét [27]. A β -adrenerg stimuláció hatással van továbbá a Na_v csatornákra is, növeli az általuk kialakított $I_{Na,late}$ -et [28].

A β -receptorok stimulációja foszfolipáz C-t (PLC) aktiválva a sejtmembránban található foszfoinozitol-biszfoszfát (PIP_2) diacil-glicerollá (DAG), és inozitol-1,3,5-triszfoszfáttá (IP_3) hasadását eredményezi. Ez a két termék együttesen aktiválja a protein kináz C-t (PKC), valamint növeli a $[Ca^{2+}]_i$ -t, ami szintén PKC aktivitást növel. Egészséges szívizomban a PKC elsősorban a kontraktilitást szabályozza [29], de aktivitása több szívizombetegségben megnő [30,31].

Fontos még kiemelni emellett az EPAC („Exchange Protein directly Activated by cAMP”) útvonalat is. A fehérjét, nevéből adódóan a cAMP aktiválja [32]. A PKA [33] és PKC [34] útvonalakat serkenti, emellett az szarkoplazmatikus retikulumok (SR) szarkoplazmatikus/endoplazmatikus retikulum Ca^{2+} -ATP-ázait (SERCA) és a rianodin receptor 2-it (szív izoforma, RyR_2) is, ezzel finomhangolva a sejtek kalcium homeosztázisát [35].



2. ábra: β -adrenerg hatás a szívizomsejteken. Látható, hogy a PKA és EPAC-PLC útvonalak révén a β -adrenerg receptor a sejtek számos funkcióját befolyásolja [36].

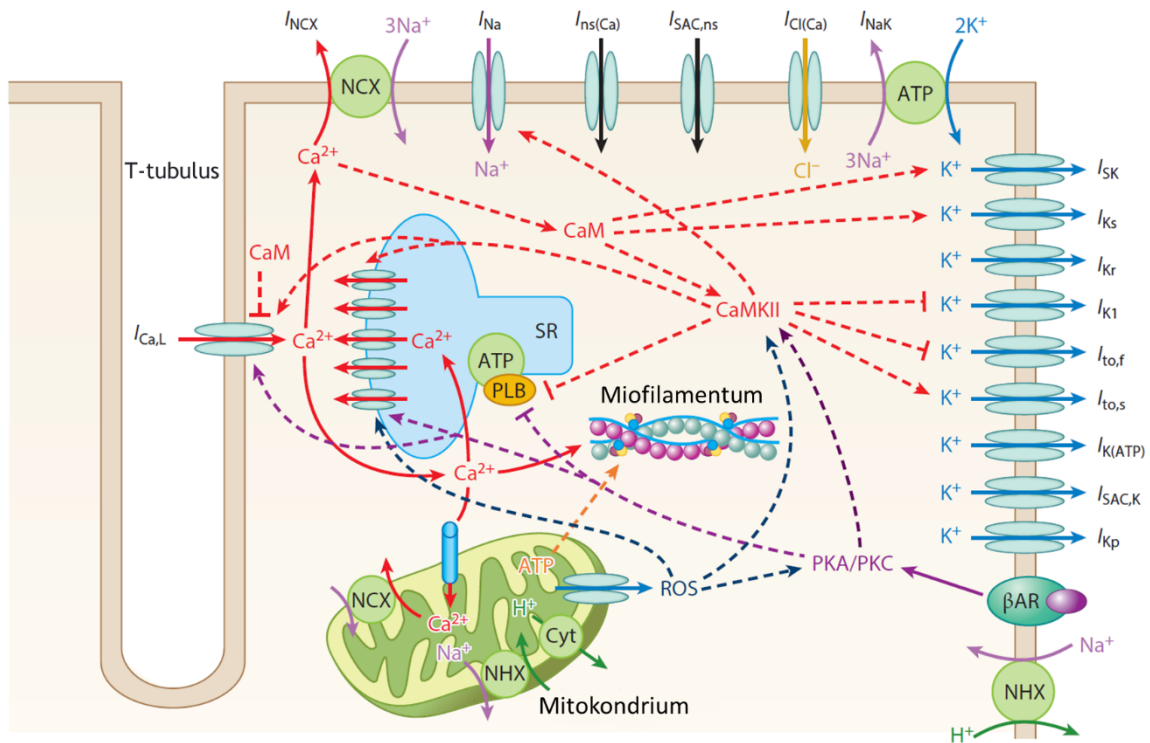
2.3 *A kalcium szerepe a szívizomsejtek működésében*

A kalcium kiemelt szereppel bír az izomszövetek minden fajtájában, így a szívizomban is (3.ábra). Azt a folyamatot, melynek során a szívizomsejteket stimuláló elektromos jel mechanikai válasszá alakul, excitációs-kontrakciós kapcsolatnak nevezzük. Az AP kialakításához és az azzal egyidőben létrejövő kontrakció létrehozásához szükséges kalcium nagyjából 30%-a az extracelluláris térből származik, és az $I_{Ca,L}$, valamint az I_{NCX} reverse módja révén jut be a sejtbe. A maradék 70% az izomsejtek SR-éből szabadul fel a növekvő $[Ca^{2+}]_i$ hatására, a RyR_2 -n keresztül. Ezt hívjuk kalcium indukálta kalcium felszabadulásnak (CICR). Az aritmiához vezető kalcium túltöltődés elkerülése érdekében, a növekvő $[Ca^{2+}]_i$ inaktíválja az $I_{Ca,L}$ -t [37]. A sejtek relaxációjához azonban el kell távolítani a beáramlott, illetve felszabadult kalciumot a sejt plazmából. Ilyenkor a kalcium 70%-a ismét az SR-be kerül visszapumpálásra az SERCA-n keresztül, míg a maradék 30% az extracelluláris térbe kerül eltávolításra az I_{NCX} forward módján, és a sejt felszíni kalciumpumpán át.

A korábban tárgyalt szimpatikus aktiváció is megemeli a $[Ca^{2+}]_i$ -t. A Ca^{2+} ionok többféle úton keresztül közvetíthetik a szimpatikus aktiváció hatását a szív szöveteiben: közvetlenül, a Ca^{2+} -kötő fehérjékkel, például a kalmodulinnal komplexeket alkotva, és/vagy más Ca^{2+} -érzékeny szabályozó utakon keresztül (leggyakrabban a CaMKII).

Az L-típusú kalciumáramnak az AP létrehozásában betöltött szerepéről dolgozatomban korábban már írtam. A $[Ca^{2+}]_i$ emellett a szívizomsejtek egyéb ionáramait is befolyásolja. A $Na_v1.5$ csatornákon például mind kalcium mind CaM kötőhely található. Egyes munkacsoportok azt találták, hogy a kalcium önmagában is megváltoztathatja a csatorna működését [38], míg mások arra a következtetésre jutottak, hogy erre csak a Ca^{2+} -CaM komplex képes [39,40]. A direkt hatások mellett a Ca^{2+} -CaM komplex a CaMKII aktiválásával is befolyásolja a Na_v -csatornákat [41–43]. Az aktív CaMKII egy ser/thr kináz, ami legalább három helyen képes foszforilálni a $Na_v1.5$ csatornákat [44].

Hasonlóan, a kalcium a CaM-CaMKII útvonalon hat a szívizomsejtek káliumáramaira. Míg akutan a korábban leírt β -adrenerg stimulációra növeli mind az I_{Ks} mind az I_{K1} amplitúdóját [26], addig a CaMKII krónikus aktivitása csökkenti mind az I_{Ks} [45], mind az I_{K1} [46] áramokat létrehozó csatornák expresszióját, ezzel magukat az áramokat is.



3. ábra: A szívizomsejtek kalcium körforgásának sémás ábrája [47].

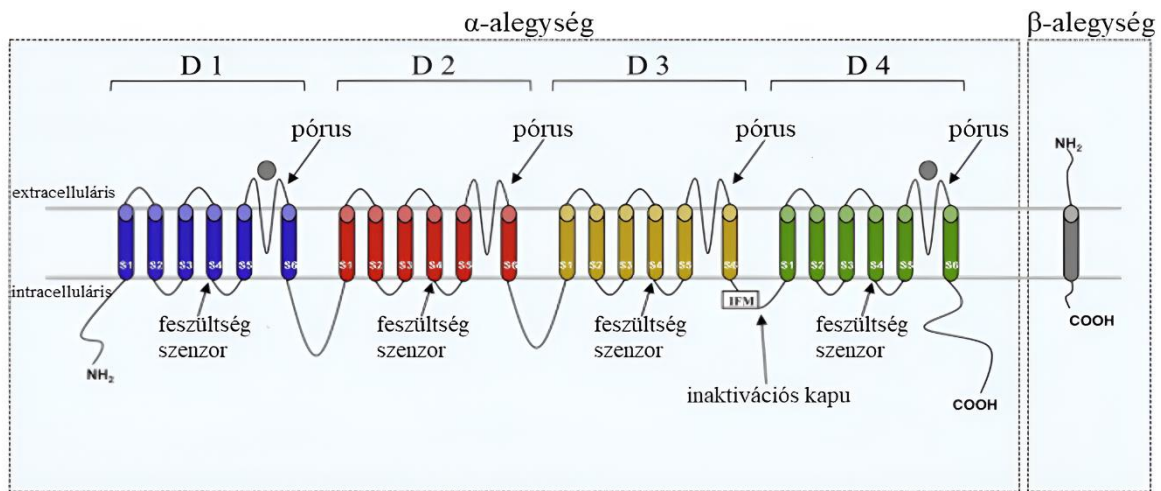
2.4 A késői nátriumáram ($I_{Na, late}$)

2.4.1 A feszültségfüggő nátriumcsatorna

Az emlősök szívében több Na_v izoforma is megtalálható, amelyek mind más feszültségérzékenységgel, kinetikával, vezetőképességgel és gyógyszerérzékenységgel bírnak. A szív kamraizomzatában a $Na_v1.5$ a leggyakoribb pórusképző alegység (4. ábra). Míg ez az izoforma nem érzékeny a legszélesebb körben hatékony nátriumcsatorna gátlószerre, a tetrodotoxinra (TTX) [48,49], más TTX érzékeny Na_v -csatornák is megtalálhatóak a szíven [50–54]. A szív ingerületképző és vezető szöveteiben legsűrűbben a $Na_v1.1$ és $Na_v1.6$ izoformák találhatóak meg. A csatornák pórusformáló alegységéhez kapcsolódó járulékos fehérjék is módosíthatják az adott csatorna feszültségfüggését és kinetikáját [55].

A szív munkaizomzatában a sejtmembrán depolarizálójának hatására néhány milliszekundumnyi időre a feszültségfüggő nátriumcsatornák megnyílnak [56,57], ezzel létrehozva a korai nátriumáramot ($I_{Na, early}$), ami a munkaizomsejtek akciós potenciáljának (AP) felszálló szárát alakítja ki. Megnyílásuk után ezek a nátriumcsatornák gyorsan inaktíválódnak, azonban az AP időtartama alatt egy részük visszatérhet zárt állapotba, és újra megnyílhat, vagy bizonyos esetekben a csatorna inaktíváció teljesen elmaradhat [58]. A nátriumcsatornák így egy

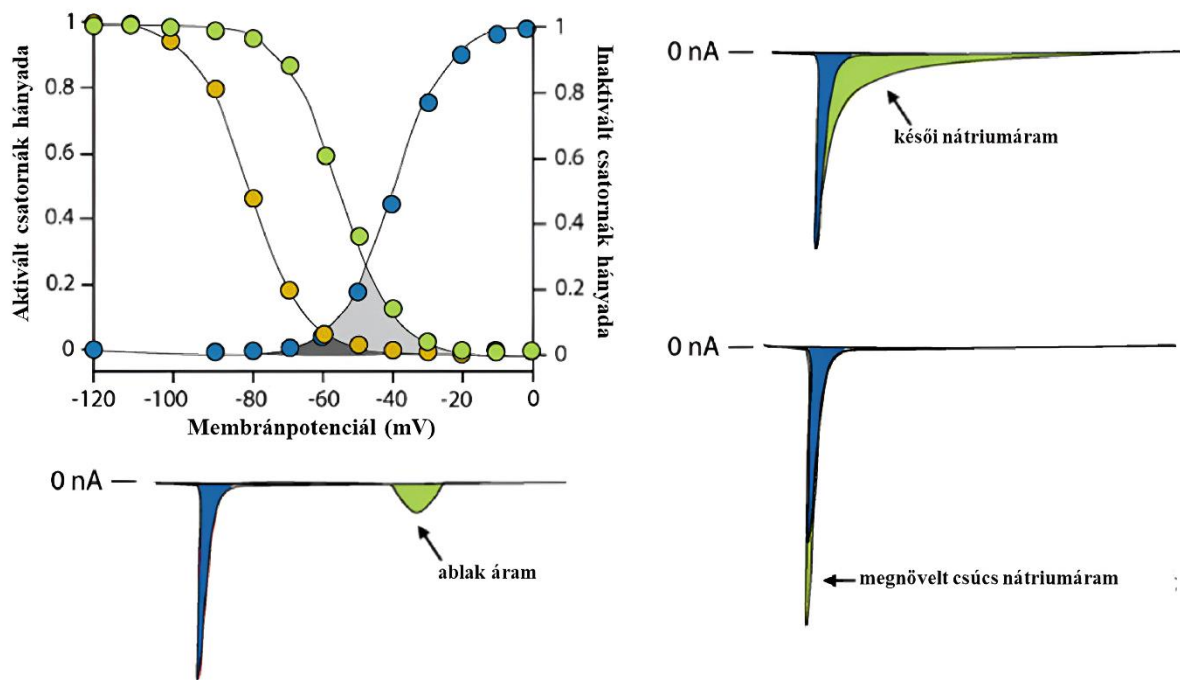
elnyújtott, késői nátriumáramnak ($I_{Na,late}$) nevezett áramkomponenst hoznak létre, ami az AP plató fázisa alatt aktív.



4. ábra: Az $Nav1.5$ csatorna szerkezetének egyszerűsített rajza. Látható a négy homológ domén, az interdomén régiók, a pórusformáló szakaszok, feszültség szenzorok és az inaktivációs kapu [59].

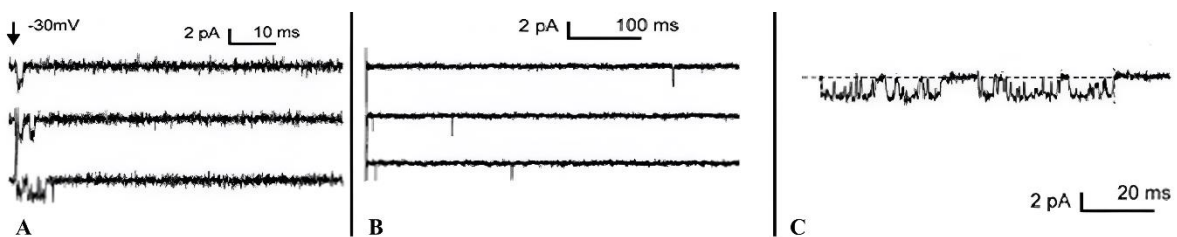
2.4.2 A $I_{Na,late}$ -et létrehozó mechanizmusok

A $I_{Na,late}$ -et létrehozó mechanizmusok közül az egyik széleskörben elfogadott elmélet az ablak áram („window-current”). Ez azon a tényen alapul, hogy a Nav -csatornák aktivációs és inaktivációs feszültségfüggés-tartományai átfednek egymással [60]. Ez az átfedés egy feszültségablakot alakít ki, ami lehetőséget biztosít arra, hogy a csatornák az inaktív állapotból újra nyitható, zárt állapotba lépjenek (5. ábra). Fiziológiás körülmények között, egészséges szívizomsejtekben ez a jelenség minimálisan járul hozzá a $I_{Na,late}$ -hez, mivel a $Nav1.5$ csatornák feszültség ablaka -60 mV körül van, elég távol esve a plató fázis membránpotenciáljától. Bizonyos betegségekben ez a feszültségablak jelentősen megváltozhat. Emellett egészséges izomsejtekben ebben a feszültségablakban az áram sűrűsége mindössze 5%-a a maximumnak [61–63].



5. ábra: Az aktivált és inaktivált nátriumcsatornák hányada a membránpotenciál függvényében, valamint a korai, a késői, és az „ablak” nátriumáram alakja az AP alatt [64]. (Kék körök: aktivált csatornák hányada, sárga körök: inaktivált csatornák hányada, zöld körök késleltetetlen inaktiválódó csatornák hányada.)

A $I_{Na,late}$ -ért jóval nagyobb mértékben felelős mechanizmus a feszültségfüggő nátriumcsatornák különböző kapuzási módjain alapul. Single-channel mérések sorozatával háromféle módját írták le a $Na_v1.5$ kapuzásának a szív kamrai szöveteiben. Ezek az átmeneti [transient (TM)], a kitérés [burst (BM)] és a késői szórt [late scattered (LSM)] mód [65]. Míg a $I_{Na,early}$ -t jórészt a TM hozza létre, a $I_{Na,late}$ kialakításáét a másik két mód, a BM és a LSM a felelős (6. ábra). Ezek közül is főként az LSM, mivel a BM nyitások száma gyorsan csökken a membrán depolarizációja után.



6. ábra: A $Na_v1.5$ csatornák nyitási módjai single channel méréseken. „transient mode” (A), „late scattered mode” (B), „burst mode” (C) [65].

A fentiek mellett egyéb tényezők is szerepet játszhatnak a $I_{Na,late}$ kialakításában. Ilyen például a csatornák nem-egyensúlyi kapuzása („non-equilibrium gating”), ahol a sejtmembrán „feszültség-előzménye” idézi elő a nátriumcsatornák állapotai közötti átmenetek megváltozását [66–68]. Egy másik tényező, hogy az áram kialakításában több Na_v izoforma is részt vesz, melyeknek a szívizom típusú csatornákétól eltérő az aktivációs és inaktivációs kinetikája [50–54].

2.4.3 A késői nátriumáram szerepe a szív elektromos aktivitásában

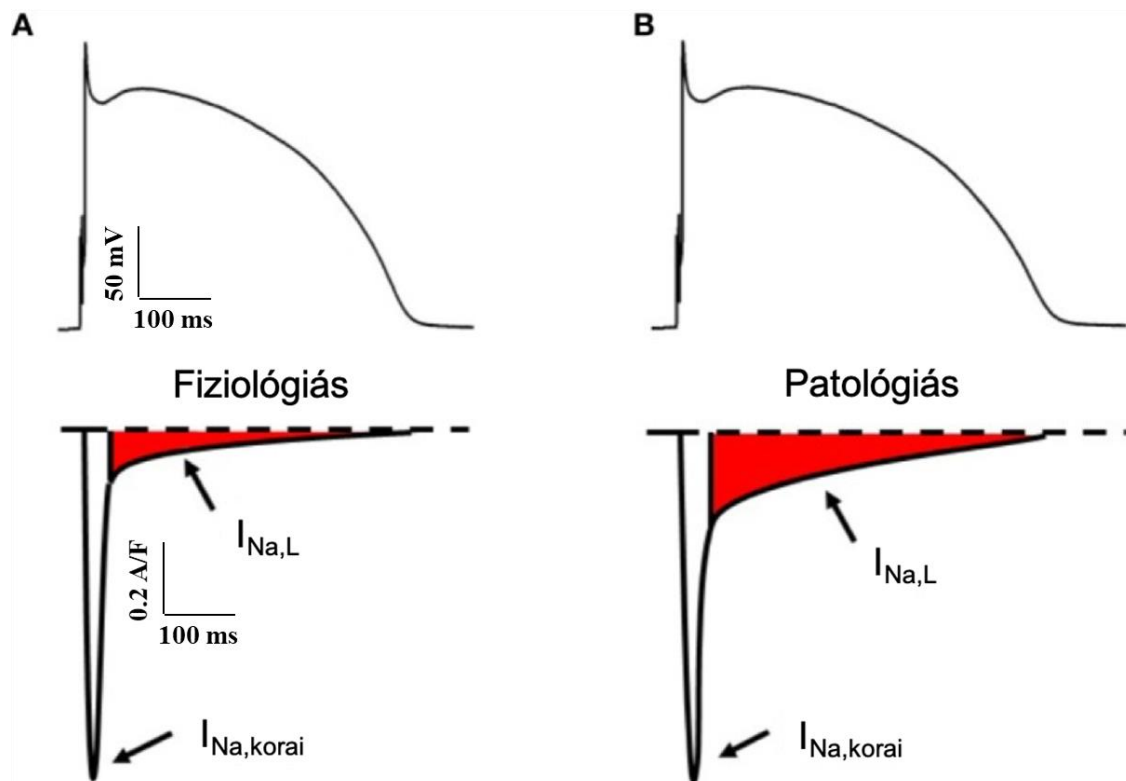
Bár alacsony áramsűrűsége miatt korábban megkérdőjeleződött a $I_{Na,late}$ szerepe az AP kialakításában, mivel a plató fázis hosszáért apró ki- és befelé irányuló áramok egyensúlya felel, ezért még egy kis elváltozás is jelentősen megváltoztathatja az AP időtartamát [69], így az áram fontossága napjainkban általánosan elfogadott. Az áram gátlása jelentősen lerövidíti az AP-t a szív ingerületvezető rendszerében [70], valamint a kamrai izomsejtekben [71], ezzel alátámasztva, hogy a $I_{Na,late}$ nagy mértékben hozzájárul a nem ingerképző AP hosszának meghatározásához. AP feszültség clamp kísérletek bizonyították, hogy az áram sűrűsége összeegyeztethető nagyságrendű a főbb káliumáramokéval tengerimalac [68] és nyúl [28] kamrai izomsejteken. Munkacsoportunk egy korábbi kutatása során azt is leírta, hogy a kutya, a tengerimalac, valamint az emberi szívizomsejtek $I_{Na,late}$ -jének alakja között milyen karakterisztikus különbségek vannak [72].

A fenntartott nátriumáram fontos szerepet játszik a szív ingerképző szöveteinek elektrofiziológiájában is [73,74]. Kevesebb, mint $1 \mu M$ koncentrációjú TTX alkalmazása esetén ezen szövetek sejtjeinek, spontán depolarizációjának frekvenciája csökken [75], jelezve a nem szív eredetű Na_v -csatornák jelenlétét.

A pitvari AP kialakításához is hozzájárul az $I_{Na,late}$ [76,77]. Feltehető, hogy az $I_{Na,late}$ nagyobb a pitvarban, mint a kamrában, ugyanis az $I_{Na,early}$ sűrűsége is nagyobb [78,79], ami arra enged következtetni, hogy a pitvari sejtek membránjában több nátriumcsatorna van. Ugyanakkor, a pitvari sejtek pozitívabb membránpotenciálja, és a nátriumáram negatívabb egyensúlyi inaktivációs feszültsége [78,79] lecsökkenti az elérhető nátriumcsatornák számát [80].

A kamrai szívizomsejtek akcióspotenciáljának közvetlen befolyásolása mellett a $I_{Na,late}$ közvetve is alakítja a sejtek membránpotenciálját, azok kalcium homeosztázisára gyakorolt hatásán keresztül. Befelé irányuló áramként az $I_{Na,late}$ depolarizálja a membránt, magasan tartja a membránpotenciált az AP plató fázisa alatt, ezzel nyújtja magát az AP-t. Minél több ideig van

a membrán depolarizált állapotban, +40 mV felett, annál nagyobb az esélye, hogy az L-típusú Ca-csatornák meg- vagy újranyúljanak [81–85]. Emiatt a hosszabb AP elkerülhetetlenül nagyobb Ca^{2+} beáramlással jár az izomsejtekbe (7.ábra).



7. ábra: A kamrai szívizomsejtek AP-jának, és késői nátriumáramának alakja fiziológias (A) és patológias (B) esetekben [86].

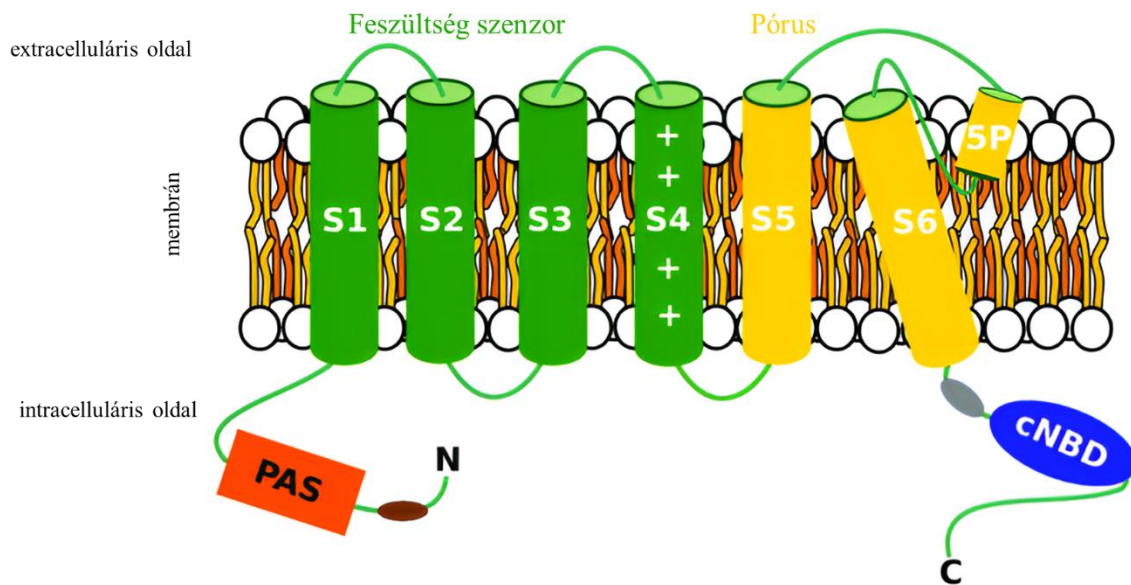
2.4.4 A szív elektromos aktivitásának hatása a késői nátriumáramra

Amellett, hogy a $I_{\text{Na,late}}$ befolyásolja a szívizomsejtek akciós potenciálját és elektrofiziológiai paramétereit, úgy ennek a fordítottja is elmondható. Mint a szívizomsejtek legtöbb elektrofiziológiai tulajdonsága [87], úgy a $I_{\text{Na,late}}$ is fordított-frekvenciafüggést mutat, tehát minél gyakoribb az ingerlés, annál kisebb lesz az áram sűrűsége [88,89]. Így magasabb szívritmus mellett a $I_{\text{Na,late}}$ egyre kevésbé járul hozzá a Na^+ beáramláshoz is. Magasabb szívfrekvenciánál az AP is rövidül, ami miatt az $I_{\text{Na,late}}$ rövidebb ideig aktív, ezzel is tovább csökkentve a Na^+ ezen úton történő sejtekbe áramlását. Csökken azonban a Na^+ eltávolítása is, mivel a megnövelt frekvencia csökkenti a Na^+/K^+ pumpa (NKP) aktivitását [90], így egy frekvenciafüggő Na^+ túltöltést kialakítva izolált sejteken. Ez a jelenség ritkán fordul elő viszont β -adrenerg stimuláció hatására, mivel ez a jelátviteli útvonal foszfolemmán keresztül növeli a NKP aktivitását [91], így serkentve a nátrium ezen útvonalon történő eltávolítását.

2.5 *A késői egyenirányító káliumáram gyors komponense (I_{Kr})*

2.5.1 **A feszültségfüggő káliumcsatornák**

Ahogy dolgozatomban korábban említettem, a késői egyenirányító káliumáram három komponensből (I_{Kur} , I_{Kr} és I_{Ks}) áll [92–96]. Bár a csatorna alegységeket felépítő fehérjék egyediek az egyes komponensek esetében, ezzel kialakítva azok eltérő áramkinetikáját, a szerkezeti felépítésük azonos. A csatorna felépítése hasonlít a feszültségfüggő nátriumcsatornához, azzal a különbséggel, hogy míg ott az egész csatornát egyetlen fehérje alkotja, itt négy azonos α -alegység homotetramert alkotva alakítja ki a csatornát. Az α -alegységek hat transzmembrán szegmessel, és egy pórusformáló régióval rendelkeznek, N- és C-terminálisuk intracellulárisan helyezkedik el. A feszültség szenzor az alegységek S4 szegmense [97], míg a K^+ szelektivitásért az S5-S6 szegmenseket összekötő aminosav lánc a felelős [98] (8.ábra). Az áram gyors komponensét (I_{Kr}) kialakító ioncsatorna a $K_v11.1$ csatornafehérjét tartalmazza. A csatorna az akciós potenciál elejét kialakító gyors depolarizáció hatására megnyílik, majd gyorsan inaktíválódik. Ezt egy lassú újra nyílás követ, majd a csatornák zárt állapotba kerülnek. A plató fázis ezen szakaszán megfigyelhető áram-amplitúdó növekedést az okozza, hogy egyre több csatorna lép be ebbe a „körforgásba”, ezt áramakkumulációnak nevezzük.



8. ábra: a Kv11.1 csatorna α -alegységének sémás ábrája. Látható a 6TM/1P szerkezet. A feszültség-szenzor szerepét az S4 szegmens tölti be, míg a pórust az S5 és S6 szegmensek alakítják ki. Egy csatornát négy α -alegység épít fel [99].

2.5.2 Az I_{Kr} elektrofiziológiai tulajdonságai

Az áram akkor aktiválódik, amikor a sejtmembrán potenciálja depolarizáció hatására -40 mV-nál pozitívabbá válik. Az I_{Kr} aktivációs időállandója az emberi szívizomsejteken 100 - 200 ms [100–102]. Amplitúdója 0 mV-nál éri el a maximumot, ennél pozitívabb membránpotenciál értékeknél az áramsűrűség csökken [103,104]. Az áram egyenirányító tulajdonságáért a $K_v11.1$ korábban említett kapuzási kinetikája a felelős. Az áram az AP elején történő depolarizáció hatására aktiválódik ugyan, de pozitív membránpotenciál miatt szinte azonnal inaktiválódik is, így az AP plató fázisa alatt nincs jelentős repolarizáló hatása. Ahogy azonban a kalciumcsatornák inaktiválódása következtében a membránpotenciál ismét megközelíti a 0 mV-t, a csatornák újra nyílnak [105–107]. Az áram ekkor a repolarizáció fő hajtóerejét képezi, a terminális repolarizáció elindításáért felel [108]. Hiányában a kamra akciós potenciál jelentősen megnyúlik, ezzel szívritmuszavarok táptalaját képezve.

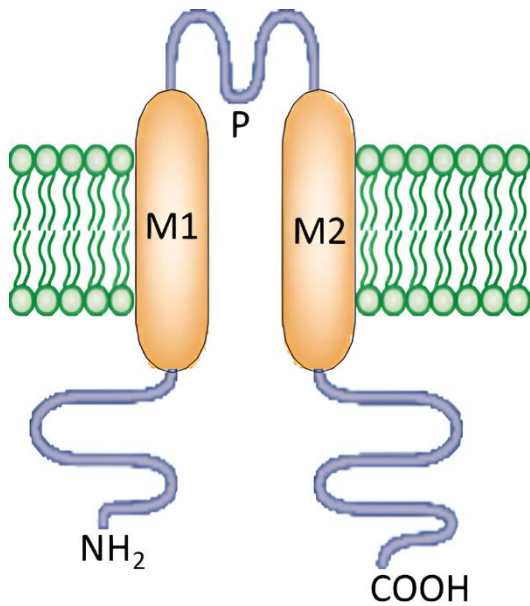
2.5.3 Az I_{Kr} áram működését módosító hatások

Az extracelluláris $[K^+]_e$ elemi befolyásoló tényezője az áram aktivitásának. A $[K^+]_e$ növekedése a hajtóerő csökkenése ellenére megnöveli az áramsűrűséget [109,110], míg a káliumszint csökkenés gátolja az áramot is, ráadásul az I_{Kr} -t létrehozó csatorna internalizációját, és lebomlását eredményezi [111]. A szervezet acidózisa, a $K_v11.1$ aktiváció feszültségfüggésének módosításával és a deaktiváció gyorsítása révén szintén csökkenti az I_{Kr} sűrűségét [103]. A kétértékű kationok szintén gátolják az áram működését [112–115]. Az áramnak léteznek több szelektív gátlószere is, például az E-4031, a d-Sotalol, és a Dofetilid is [116–118]. Emellett olyan egyéb szervrendszerekre ható gyógyszereknek is van I_{Kr} gátló hatása, mint az antipszichotikum Haloperidol [119], vagy az antivirális Dasabuvir [120].

2.6 A befelé egyenirányító káliumáram (I_{K1})

2.6.1 A befelé egyenirányító kálium csatorna

A befelé egyenirányító csatornák felépítése egyszerűbb feszültségkapuzott társaikénál. Emberben az I_{K1} áramot létrehozó csatorna fő pórusformáló fehérjéje a $K_{ir}2.1$ [121], viszont a $K_{ir}2.2$ és $K_{ir}2.3$ alegységek is részt vesznek homo- vagy heteromerek formájában. Az α -alegység két transzmembrán doménből áll, ezek között található meg a pórusformáló régió (9.ábra). Négy ilyen alegység képez egy funkcionáló csatornát. Tengerimalac kamrai izomsejteken négy kisebb vezetőképességű, és egy teljesen nyitott állapotát írták le [122,123]. Bár a csatorna sem ligand, sem feszültség által nem kapuzott, egyenirányító karakterisztikájáért az intracelluláris oldalhoz feszültség- és időfüggően kötődő Mg^{2+} és poliaminok (spermidin³⁺, spermin⁴⁺) a felelősek, kötődésük a kifelé irányuló áramot -40 mV-tól pozitívabb membránpotenciálon deaktiválja.



9. ábra: A K_{ir} által kialakított csatornák általános szerkezete. [124]

2.6.2 Az I_{K1} szerepe a szívműködés elektrofiziológiájában

Az elektromos diasztole alatt a szívműködés membránja szinte csak a kálium ionok számára permeábilis. Ez hozza létre az I_{K1} áramot, ami a -80 mV körüli nyugalmi membránpotenciál fenntartásáért felelős. Ez volt a szívműködésen elsőként leírt káliumáram. Nincs jelen a szív összes szövetében, például a szinusz és az AV-csomók sejtjeiről hiányzik. Densitása mind térben mind időben változik. Fötális korban alacsonyabb az áramsűrűsége, viszont a fejlődés során felnőttkorig növekszik. A pitvari izomsejteken kisebb, míg a kamrai munkaizomzaton és a Purkinje-rostokon nagyobb az amplitúdója. A gyors depolarizáció hatására az AP felszálló szára alatt az I_{K1} áramsűrűsége minimális a csatorna erőteljes egyenirányítása miatt. Az AP második fázisa alatt nem járul hozzá a repolarizációhoz, ezzel viszont lehetővé teszi, hogy ez a szakasz hosszú legyen [1]. A repolarizáció során, ahogy a membránpotenciál -40 mV alá süllyed, az I_{K1} is fokozatosan egyre nagyobb mértékben aktiválódik újra.

2.6.3 A befelé egyenirányító káliumáram működését befolyásoló tényezők

Az I_{K1} -et létrehozó csatorna konduktanciáját növeli az extracelluláris $[K^+]$ megemelkedése [125], Ba^{2+} , Cs^+ és különböző antiaritmiás farmakonok (pl. Amiodaron) [126] gátolják a csatornát. Intracellulárisan a sejtek acidózisa, oxidatív stressz és lizofoszfátidil-kolin fejthet ki gátló hatást [127–129].

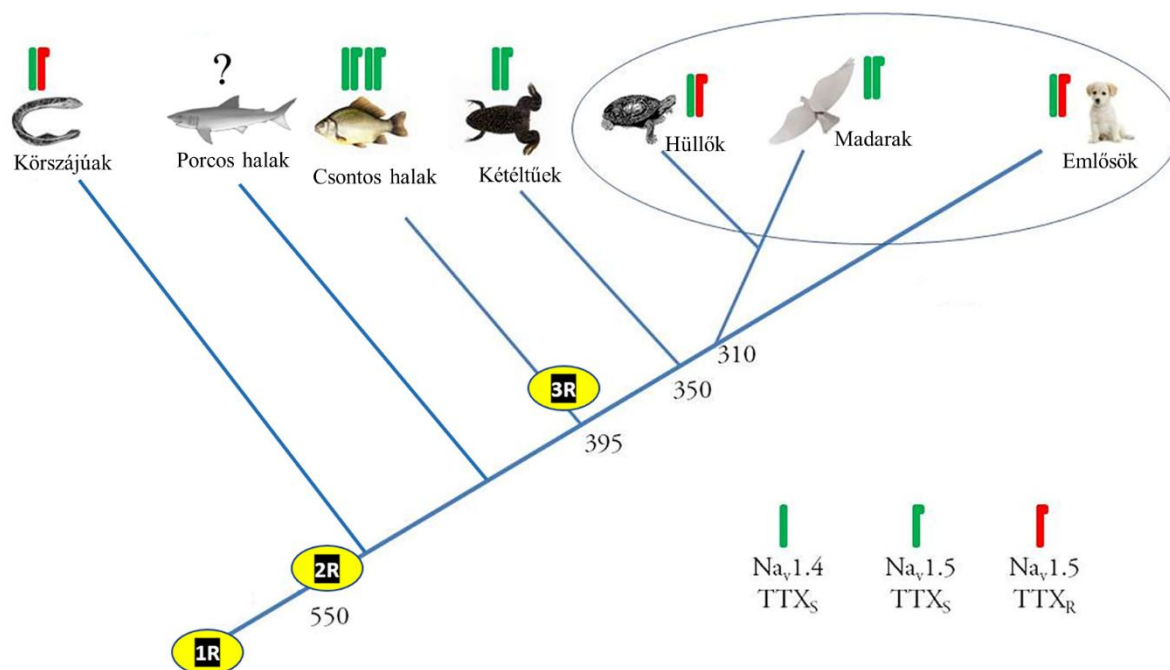
2.7 A kamrai szívizomsejtek ionáramainak fajok közti különbségei

Az állatvilágban a szívizomsejtek akciós potenciáljai morfológiájukban jelentősen eltérnek. Ezek az eltérések függenek az állat testméretétől, szívritmusától, de a környezet oxigénellátottságától és hőmérsékletétől is. Így míg például az erdei cickányok 50%-os repolarizációhoz tartozó AP hossza (APD_{50}) 3.8 ms [130,131], addig a kékbálna teljes AP hossza (APD) 1200 ms is lehet [132]. Annak ellenére, hogy ekkora eltérések léteznek, az AP-t ugyanazok a korábban említett feszültség vezérelt ioncsatornák hozzák létre az összes emlősben [3]. Az AP hullámformák közti különbségek hátterében elsősorban az eltérő szívritmus miatt kialakuló génexpressziós eltérések állhatnak, mivel az ortológ gének termékei közötti funkcionális eltérés elhanyagolható [133].

Minden gerinces akciós potenciálja a 0-ik fázis gyors depolarizációjával kezdődik. Az első fázis csak emlősök és szárnyasok esetében kifejezett, ebben az esetben is csak a kamrafal bizonyos rétegeiben. A plató fázis formában és méretben eltérő mértékben van jelen a különböző fajok akciós potenciáljában. Míg egyes hüllők plató fázisa akár másodpercekig is tarthat [134], addig a legtöbb rágcsálófaj kamrai AP-ja egy gyors repolarizációval ér véget, közvetlenül az AP csúcsa után. A harmadik és negyedik fázis formája szintén univerzális, bár a nyugalmi membránpotenciál értéke szintén mutat eltéréseket a fajok között.

A nulladik fázisért és a membránde polarizáció miokardiális terjedéséért az összes gerincesben a I_{Na} felel. A sokszor még szíven belül is eltérő expressziós mintázat, a nyitható csatornák száma, és a domináns α -alegység típusa is befolyásolja az I_{Na} nagyságát. A legtöbb gerinces szívében a $Na_v1.5$ a fő pórusformáló alegység, de emlősökben (köztük emberben is) más, elsősorban idegsejteken előforduló izoformák ($Na_v1.1$, $Na_v1.2$, $Na_v1.6$) is előfordulhatnak [74,135–138]. Általánosságban elmondható azonban, hogy az azonos hőmérsékleten vizsgált gerinces szívizomsejtek hasonló I_{Na} áramsűrűséget mutattak endo- és ectoterm állatoknál is, bár a hüllők kamrai izomsejtjein alacsonyabb volt az áramsűrűség, mint más gerincesekén. Eltér

azonban a nátriumcsatornák TTX érzékenysége (10.ábra). Ez elsősorban a $Na_v1.5$ gén specifikus mutációján és a csatorna α -alegység összetételén múlik [139].



10. ábra: A TTX rezisztencia evolúciós megoszlása. A $Na_v1.4$ és a $Na_v1.5$ TTX szenzitív (zöld) és rezisztens (piros) izoformái feltüntetve. A porcos halak TTX érzékenységéről nincs irodalmi adat [140].

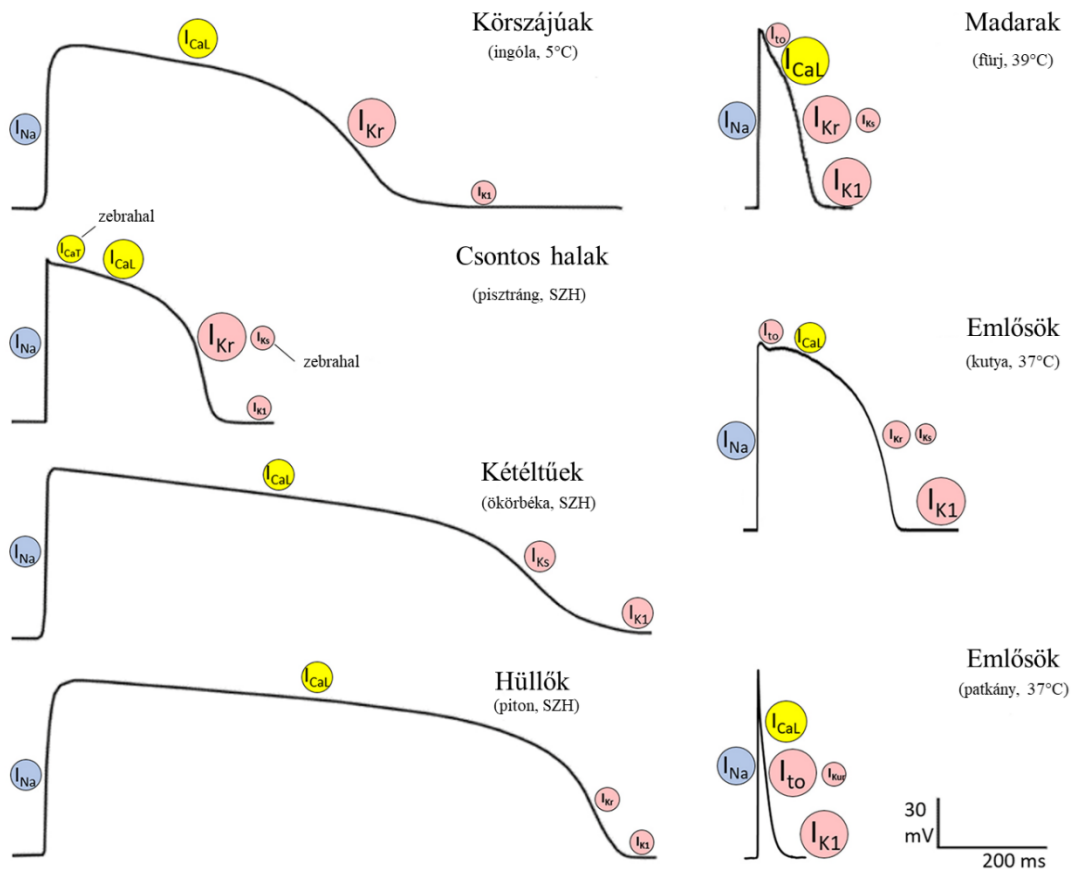
Az emlős szívizomsejtek működéséhez a korábban részletesebben is tárgyalt kalcium indukálta kalciumfelszabadulás (CICR) elengedhetetlen. Az összes tanulmányozott emlős kamrai izomsejtje rendelkezik T-tubulussal, ami lehetővé teszi, hogy a plazmamembrán, rajta az L-típusú kalciumcsatornákkal és a szarkoplazmatikus retikulum közel legyen egymáshoz, így a kalcium beáramlása hamar beindíthatja a CICR-t. Teknősökben [141] és több halfajban [142] a szívizomsejtek kontrakciója jóval inkább az extracelluláris Ca^{2+} beáramlásán múlik, mintsem a CICR-en. Emellett a többi ectoterm állat, a madarak, és az embrionális emlős kamrai szívizomsejtekről hiányzik a t-tubulus rendszer. Ezért a CICR kevésbé van összhangban a kalciumbeáramlással és a kontrakciót az $I_{Ca,L}$ áramsűrűsége befolyásolja a leginkább, ami ezekben a fajokban jóval nagyobb, mint az emlősökben.

Az I_{Kur} az emlősökön kívül más gerincesben nem található meg, emellett a hüllő, kétlábú és hal szívizomsejteken sem találtak I_{to} , vagy egyéb gyors kinetikájú K^+ áramot, annak ellenére, hogy az AP-juknak van első fázisa [143–148]. Az I_{to} megléte azonban nem exkluzív az emlősökre, fűj szív pitvari és kamrai izomsejtjein egyaránt megfigyelhető [149]. Egyes rágcsálófajokban (egér, patkány [150,151], és mormota [152]) a sejtek repolarizációját teljes

egészében a gyors káliumáramok (I_{Kur} , és I_{to}) koordinálják, ami egy plató fázis nélküli, rövid AP-t eredményez és különösen magas szívritmust tesz lehetővé. Az emlősök nagy részében, és a madarakban viszont az I_{to} egyedül a korai, rövid repolarizációért felel (első fázis), viszont ez sem azonos fokú a kamrafal teljes vastagságában. Ez a nagyobb sűrűségű I_{to} nagyobb hajtóerőt képez a Ca^{2+} beáramlásnak, ami jobban meghajtja a CICR-t is.

Az I_{Ks} és I_{Kr} teljes aktivációja az őket létrehozó csatornák al csoportbeosztásától és a membránpotenciál értékétől függően akár több tíz másodpercig is eltarthat. Hal szívizomsejtekben jórészt az I_{Kr} felel a membrán repolarizációjáért, áramsűrűsége itt kifejezetten nagy [153]. Az áram aktivációs kinetikája lassabb, inaktivációs kinetikája gyorsabb az emlős szívizomsejteken megtalálható típusnál [154–156]. Az összes gerinces közül a hüllők I_{Kr} áramsűrűsége a legkisebb [157], míg a fürjeből nyert adatok alapján a madarak szívizomsejtjei jelentős denzitású I_{Kr} -rel rendelkeznek, amely sok emlőst is meghaladja [158]. A kételtűek jelentős áramdenzitást mutató I_{Ks} -e már régóta ismert [146], de halak kamrai izomsejtjein csak nemrég mutatták ki, hogy a késői egyenirányító káliumáram lassú komponense is fontos szerepet játszik az AP kialakításában [159,160]. A hüllő szívizomsejtek membránjának repolarizációja még nem teljesen ismert, így az sem világos, hogy van-e funkcionális I_{Ks} ezeken a sejteken. A madarak kamra izomsejtjein vizsgált I_{Ks} denzitása ugyan kifejezetten nagy, viszont csekély mértékben járul hozzá a repolarizációhoz, ugyanis HMR-1556 alkalmazása esetén az APD_{90} érték nyúlása mindössze $11.7 \pm 1.4\%$ volt [158].

A befelé egyenirányító káliumáram (I_{K1}) minden gerinces szívizomsejtjén megtalálható és a nyugalmi membránpotenciál fenntartásáért felel [147,158,161–163]. Ennek ellenére elmondható, hogy törzsek, de még fajok között is lehetnek különbségek az áramsűrűségében, aminek filogenetikai, és az adott állat életvitelén múló okok állnak a háttérben. Halakban, főleg a fizikailag aktív fajokban a kamrai szívizomsejtek I_{K1} amplitúdója kifejezetten nagy [147]. A hüllő és kételtű szívek I_{K1} áramáról viszonylag kevés adatunk van. Ezzel szemben elmondható, hogy a szárnyas és emlős szívizomsejtek prominens I_{K1} árammal rendelkeznek, ami valószínűleg azért van így, mert endoterm szervezetekről van szó.



11. ábra: A gerincesek főbb osztályainak kamrai akciós potenciálja. A főbb ionáramok az AP azon részénél kerültek feltüntetésre, amelyért felelősek. A kör mérete arányos mind az ionáram sűrűségének, mind az adott AP szakaszra kifejtett hatásának nagyságával [2].

Mindezen különbségeket látva (11. ábra), kimondható, hogy a szívizomsejt-modellként használt állatfajok azonos ionáramai közti különbségek vizsgálata kimondottan fontos annak szempontjából, hogy farmakológiai vizsgálatok során a kapott eredményeket megfelelően értelmezhesük.

3. Célkitűzés

3.1 *Késői nátriumáramprofilok és konduktancia vizsgálata kutya, nyúl és tengerimalac modellen*

A késői nátriumáramot már több modellen is tanulmányozták, többek között tengerimalac [68,72], sertés [164], nyúl [165], kutya [52,72,166–168] és emberi [61,72,169–171] szívizomsejteken. Ezen vizsgálatokat jórészt hagyományos voltage clamp technikával végezték, melynek hátránya, hogy az áram fiziológias, akciós potenciál alatti alakja nem figyelhető meg. Ez a probléma kiküszöbölhető akciós potenciál voltage clamp technika használatával, viszont jelenleg kevés ezzel foglalkozó tanulmány [28,68,72,167,168] létezik, melyek egyébként is főleg ionáram felvételeket vizsgálnak, nem vizsgálva az akciós potenciál alatt végbemenő konduktanciaváltozásokkal. Munkacsoportunk egy korábbi tanulmányában [72] foglalkozott kutya és emberi szívizomsejtek $I_{Na,late}$ áramprofiljainak összehasonlításával, ám a membránon áthaladó töltés mennyiségét mi sem követtük nyomon. Így jelenlegi munkánk céljai a következők voltak:

- a késői nátriumáram profiljának ($I_{Na,late}$) és konduktancia változásának ($G_{Na,late}$) szimultán tanulmányozása APVC technika segítségével, három gyakran használt emlős állatmodellen (kutya, nyúl, tengerimalac)
- az akciós potenciál alakjának, mint befolyásoló tényezőnek a vizsgálata kutya szívizomsejteken, eltérő fajokból származó kanonikus parancs akciós potenciált alkalmazva APVC technikával
- az Anemone toxin II (ATX-II) kialakította nátriumáram összehasonlítása a natív késői nátriumáram alakjával és konduktanciaváltozásaival

3.2 A befelé egyenirányító, és a gyors késői egyenirányító káliumáramok CaMKII útvonal általi β -adrenerg aktivációja

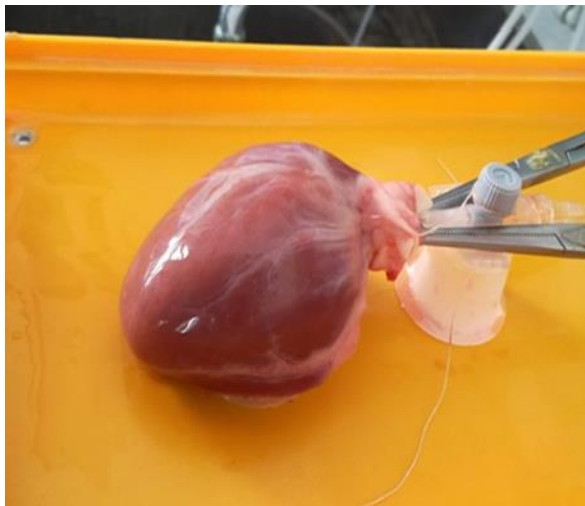
Bár az kijelenthető, hogy a szimpatikus stimuláció befolyásolja a kamrai szívizomsejteknek mind az I_{K1} mind az I_{Kr} áramait, az még kétséges, hogy mi ennek a pontos módja. Emellett a képet tovább bonyolítják a PKA és a CaMKII útvonalak közti szoros összefüggések [172]. Így kutatásunk ezen részének célja az volt, hogy elkülönítve vizsgáljuk a β -adrenerg aktiváció korábban említett két intracelluláris útvonalának hozzájárulását a szívizomsejtek fent említett két káliumáramának szabályozásában.

4. Anyagok és módszerek

4.1 Kamrai szívizomsejtek izolálása

A kutatómunka során munkacsoportunk kutyák, tengerimalacok és nyulak szívéből izolált izomsejteket használt.

A kutyák esetében kísérleti célra tenyésztett, 10-12 hónapos, ivarérett beagle kutyák szívének bal kamrájából izolált szívizomsejteken dolgoztunk. Az állatok túllátásához ketamin-hidroklorid (10 mg/ttkg, Calypsol, Richter Gedeon Nyrt., Magyarország) és xylazine-hidroklorid (1mg/ttkg, Sedaxylan, Eurovet Animal Health BV) kombinációját alkalmaztuk. Miután meggyőződünk az altatás megfelelő mélységéről, megnyitottuk az állat mellkasát, majd a lehető leggyorsabban kiemeltük a szívet. Ezt követően a szervet a benne lévő vér nagyrészen eltávolítása céljából hideg Tyrode (121 mM NaCl, 4 mM KCl, 1,3 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 10 mM HEPES, 10 mM glükóz, pH=7,35) oldatban átmostuk. Ez után a szívizomsejtek szívből történő kinyeréséhez az úgynevezett anterográd szegment-perfúziós módszert használtuk. Ezen technika során a szív bal első leszálló koszorúérét (LAD) kanüláltuk, majd az ér vérellátási területének megfelelően Langendorff apparátus segítségével perfundáltuk a szív izomzatát (12.ábra).



12. ábra: A bal koszorúér elülső leszálló ága által ellátott terület perfundálása Langendorff apparátussal

Az izolálás első fázisában, az első 5 percen 2,5 g/l taurint, 175 mg/l piruvátot, 13,5 mg/l allopurinolt, 750 mg/l ribózt, 1,3 g/l NaHCO₃-ot és 200 mg/l NaH₂PO₄-ot tartalmazó, Ca²⁺ mentes, módosított JMM oldatot (Minimum Essential Medium Eagle; Joklik-féle módosítás, M0518; Sigma) használtunk az LAD perfundált ágaiban vér és Ca²⁺ eltávolításához. Az oldatot végig oxigenizáltuk. Ezt követően, a második fázisban az eddigi perfundáló oldatot lecseréltük kollagenázzal (660 mg/L, 215 u/mg Type II.; Worthington), és borjú albuminnal (2 g/l, Fraction

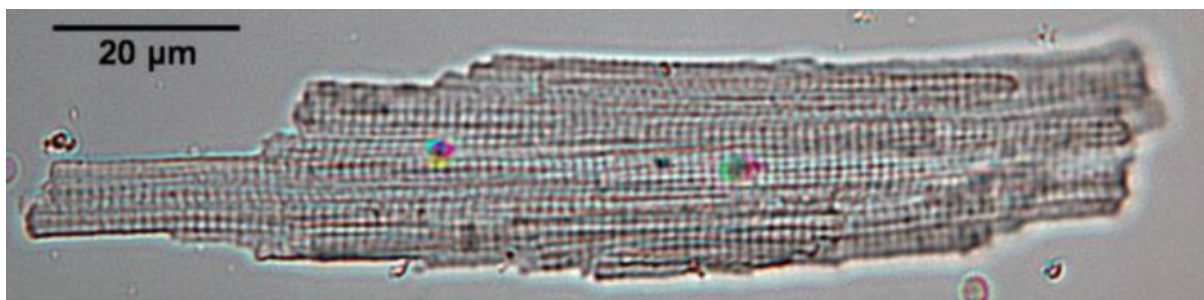
V., Sigma) kiegészített JMM oldatra, mellyel a szív méretétől függően, 30-45 percig folytattuk a perfúziót.

Az emésztés befejezése után a kanülált ér ellátási területének megfelelően U-alakú metszést ejtettünk, nagyjából a bal kamrafal midmiokardiális rétegének szintjében, ezzel szabaddá téve az elfolyósodott szövetet, melyet az izolálás első fázisában alkalmazott, 50 μM Ca^{2+} -mal kiegészített JMM-oldatban és szuszpendáltunk (13. ábra). Az izolálás utolsó fázisában ezt a sejtuszpenziót 4 cikluson keresztül ülepítettük (ciklusonként 9-10 percig), majd egyre kisebb pórusokat tartalmazó szűrőkön átengedve, és ciklusonként növekvő Ca^{2+} -koncentrációjú JMM-oldattal mostuk. Ezt követően további 2 cikluson keresztül mostuk a sejteket 2,5 mM Ca^{2+} koncentrációjú MEM (M0643, Sigma-Aldrich) oldattal, szűrés nélkül, mely oldatot szintén oxigenizáltuk.



13. ábra: A bal kamrán ejtett U-alakú bemetszés, mellyel felszabadítjuk az emésztett sejteket, amiket tápoldatban gyűjtünk össze.

Az izolálás után a sejteket az előbb említett MEM oldatban 14 °C-on tároltuk. A sejteket leghamarabb 2-3 órával az izolálás vége után kezdtük mérésre használni. Ekkor a sejtek 60-70%-a volt téglalap alakú, ép és éles szélű, valamint megtartott harántcsíkolatú (14. ábra).



14. ábra: Szívizomsejt enzimatisus izolálás után, mikroszkópban, 40x-es nagyítással.

A tengerimalacok és nyulak esetében a sejtizolálás menete hasonló volt. Az állatok véralvadását először heparinnal gátoltuk (800u, I.P.), majd az állatot nembutállal (100mg/ttkg, I.P.) altattuk. A megfelelően mély altatás beállása után az állatok szívét kiemeltük a mellkasukból, majd az aortánál fogva, Langendorff apparátusra rögzítve retrográd perfúzióval standard enzimatisus izolálást hajtottunk végre [68]. A szíveket előbb 5 percig mostuk oxigenizált Tyrode oldattal (135 mM NaCl, 5,4 mM KCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 0,3 mM NaH₂PO₄, 10 mM HEPES, 10 mM glükóz; pH=7,2). Ezt követően kettes-típusú kollagenázzal (600 mg/mL, 215 u/mg, Worthington), és proteázzal (0,05 mg/mL, Type XIV, Sigma-Aldrich) kiegészített, Ca²⁺ mentes Tyrode oldattal (135 mM NaCl, 5,4 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 0,3 mM NaH₂PO₄, 10 mM HEPES, 10 mM glucose) folytattuk a szervek perfúzióját 3 percig. Ez után a szívek bal kamráját felaprítottuk, és az így kapott darabokat további 1 órán keresztül a korábban említett enzimes oldatban inkubáltuk. Ezt követően a kinyert sejteket bikarbonátot tartalmazó Tyrode oldatban (120 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 10 mM HEPES, 25 mM NaHCO₃, 10 mM glükóz, pH=7,3) tároltuk felhasználásukig.

Az alkalmazott módszerek összhangban voltak mind a „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (US NIH publication No 85-23. revised 1996) mind pedig a Helsinki Deklaráció alapelveivel, emellett a kísérleti protokollokat a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatetikai Bizottsága is jóváhagyta (No. 51-57/1997 OEJ) (9/2015/DEMÁB).

4.2 *Elektrofiziológia*

A mérések megkezdése előtt a szívizomsejteket egy invertált mikroszkóp (Nikon Eclipse TE2000-U; Nikon Corporation, Tokyo, Japán) tárgyasztalán helyet foglaló, 1 ml térfogatú, hőmérséklet szabályzó (NBD Tc2 BIP, Cell MicroControls, USA) által fűthető plexiüveg mérőkádba helyezük, ami egy Faraday-kalitkában lévő antivibrációs asztalon (LW3036B-OPI, Newport Corporation, USA) foglal helyet. A sejteket a korábban említett bikarbonátot tartalmazó, módosított Tyrode oldattal (121 mM NaCl, 4 mM KCl, 1,3 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 10 mM HEPES, 25 mM NaHCO₃, 10 mM glükóz, pH=7,35) perfundáltuk, egy gravitáció hajtotta perfúziós rendszerrel.

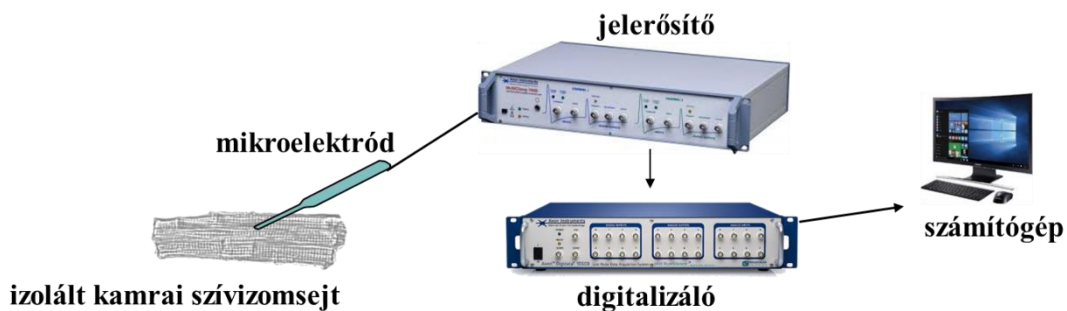
A mérések során 2-3 M Ω ellenállású mikroelektrodákat (patch pipetta) használtunk, melyeket boroszilikát üvegapillárisból készítettünk pipettahúzó (P-2000, Sutter Instrument, USA) segítségével. Az ionáramok méréséhez használt patch pipetta belső oldat összetétele a következő volt: 120 mM K-aszpartát, 30 mM KCl, 3 mM MgATP, 10 mM HEPES, 3 mM nátrium-foszfokreatin, 0,01 mM EGTA, 0,002 mM cAMP, 10 mM KOH (pH=7,3). Ezt bizonyos méréseinknél különböző hatóanyagokkal egészítettük ki. Az intracelluláris kalcium pufferelese céljából 10 mM BAPTA-t, a CaMKII útvonal gátlása érdekében 1 μ M KN-93-at, a proteinkináz A útvonal gátlása végett pedig 3 μ M H-89-et adtunk az alap pipetta belső oldathoz.

A mérések kivitelezéséhez a patch pipettákat ezüstklorid elektródra húztuk, amely egy, a sejtek analóg elektromos jeleit elvezető fejegységhez (CV-7B, Molecular Devices, USA) kapcsolódik. Ez a fejegység egy három irányba mozgatható mechanikus makro- valamint piezoelektromos mikromanipulátorhoz (Burleigh PCS-250, Thorlabs Inc., USA) rögzül, ezek segítségével közelítjük és érintjük meg a sejteket a patch pipettával.

Az ionáramok MultiClamp 700B erősítőn (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) keresztül, Digidata 1440A készülékkel (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) végzett analóg-digitális konverzió után kerülnek rögzítésre a számítógépen pClamp 10.0 (Axon Instruments Inc.) szoftver használatával (15. ábra).

A mérések megkezdéséhez a sejteket mikroszkóp alatt megközelítjük, majd megérintjük a patch pipetta hegyével. Ekkor gyenge szívást alkalmazunk, ezzel csökkentve a pipettában lévő nyomást, melynek hatására a sejt membránjának a pipetta hegyéhez érő része betüremkedik a pipettába. Ekkor egy nagy ellenállású (1-10 G Ω) kapcsolat alakul ki a pipetta és a sejt között. Ha létrejött ez az úgynevezett „gigaseal”, akkor hirtelen szívással, vagy fújással áttörjük a sejt pipettában lévő membránrészletét, így kialakítva a patch-clamp technika teljes sejt elrendezését [173]. Ez után először, egy 15 ms hosszú, +10 mV-ról -10 mV-ra történő,

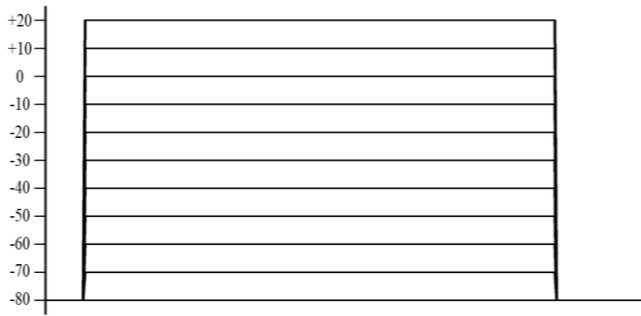
hiperpolarizáció segítségével meghatároztuk a sejtek membránjának kapacitását, amely a sejtmembrán felületével arányos. Erre azért van szükség, mert a mért ionáramokat a sejtek membránjának kapacitására történő normalizálásával kiküszöbölhetjük a sejtek méretkülönbségéből adódó különbségeket. A sejtmembrán kapacitásának meghatározása után, a mérőrendszert áram-clamp módba állítva, a sejteket DS-R3 (Főnixcomp Ltd, Magyarország) impulzus generátor által létrehozott 2 ms széles, 700 ms ciklushosszú négyszögimpulzusokkal ingerelve felvettük a szívizomsejtek akciós potenciálját (AP). Erre a sejtek transzmurális eredetének meghatározása érdekében van szükség, amire az AP alakjából lehet következtetni. Ezek után kezdődhet az ionáramok felvétele.



15. ábra: A méréseink során használt kísérleti elrendezés sémás képe

4.3 Ionáram mérés konvencionális feszültség clamp módszerrel

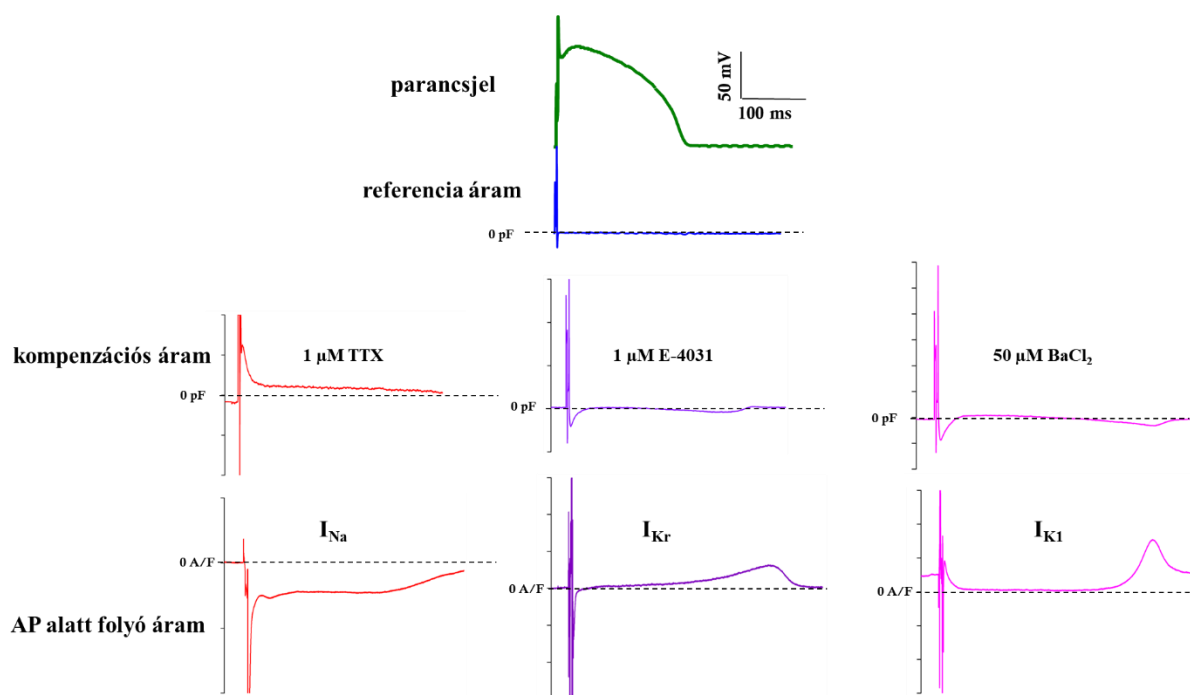
Az I_{K1} β -adrenerg jelátviteli útvonal általi módosulásának vizsgálatához konvencionális feszültség clamp technikát is alkalmaztunk. Ennek kivitelezéséhez a patch clamp teljes sejt elrendezésének kialakítása után a sejteket 250 ms hosszú tesztimpulzusokkal ingereltük miközben, az I_{Kr} és I_{Ks} áramokat farmakológiai úton gátoltuk. A tesztimpulzusok amplitúdója -80 mV-tól +20 mV-ig terjedt, tartópotenciálnak -80 mV-ot alkalmaztunk (16.ábra A). Emellett egy -120 mV-tól +50 mV-ig terjedő feszültség rámpával is dolgoztunk (16.ábra B). Az I_{K1} -et mint $BaCl_2$ -érzékeny áramot definiáltuk.



16.ábra: konvencionális voltage clamp méréseinknél alkalmazott impulzus sorozat. A -80 mV tartópotenciált 250 ms hosszú teszimpulzus követte, melynek amplitúdója -80 mV-től +20 mV-ig terjedt.

4.4 Ionáram mérés akciós potenciál feszültség clamp módszerrel (APVC)

Az ingerlékeny sejtek AP-jának kialakításában résztvevő ionáramok vizsgálatára az akciós potenciál feszültség-clamp technika (action potential voltage-clamp, APVC) a legalkalmasabb [174,175]. Méréseink során, az APVC technika kivitelezéséhez feszültségparancsként vagy egy korábban, másik sejtről rögzített, az átlagos AP paramétereket legjobban megközelítő, kanonikus AP-t alkalmaztunk, vagy pedig a sejt saját AP-ját használtuk. Így stimulálva a sejteket a mért referencia áram a saját AP használatakor nulla, mivel ilyenkor egyáltalán nincs szükség áramra az erősítőtől a sejt saját AP-jának kialakításakor. Kanonikus AP használatakor a mért referencia áram annál nagyobb, minél eltérőbb a vizsgált sejt saját AP-ja a kanonikus AP-hoz képest. A referenciaáram felvételét követően a vizsgálni kívánt ionáram gátlószert a perfúziós oldathoz adva blokkoljuk az adott ionáramot létrehozó csatornát. Az így kieső áramot a sejt AP-jának fenntartása érdekében az erősítőnek kell pótolnia, ami egy kompenzációs áram formájában kerül rögzítésre. A mérést követően történő analízis során a kompenzációs áramot kivonva a referencia áramból megkapjuk az általunk gátolt ionáramot. A nátriumáramok méréséhez a perfúziós oldathoz tetrodotoxint (TTX, 10 μM), vagy Anemone toxin II-t (ATX-II, 1, 10 nM) adtunk. A kalciumáram szerepének vizsgálata céljából az L-típusú kalciumcsatorna blokkoló nifedipin-t (1 μM) használtuk. Minden gátlószer esetében megvártuk a farmakológiai hatás stabilizálódását (4-5 perc), majd az áramjel ekkor regisztrált utolsó 20 ciklusának átlagát tekintettük a kompenzációs áramnak a mérési műtermékek, illetve a ciklusok közti különbségek kiküszöbölése céljából, végül ezt vontuk ki a referenciaáramból (17.ábra).



17. ábra: Az akciós potenciál feszültség clamp technika elve az I_{Na} , I_{Kr} és I_{K1} áramok példáján bemutatva. A szaggatott vonal a nulla vonalat jelöli. A kézzel jelölt referenciaáram alatt az ábrán feltüntetett anyagok által kialakított kompenzációs áramok. Ezeket, ha kivonjuk a referencia áramból megkapjuk az alattuk feltüntetett, AP alatt futó áramokat (az ábra nem minden eleme származik ugyan abból a mérésből).

4.5 A „hagymahámozás” (onion-peeling) módszer

Ugyanazon sejt több ionáramának vizsgálatára az APVC technika, „onion-peeling módszer” nevű változata alkalmazható [176]. Ebben az esetben tulajdonképpen a sejtek kezdeti perfúziós oldatához kumulatíván, egyre több különböző ioncsatorna specifikus gátlószerét adjuk. Fontos azonban a használt gátlószer sorrendje, a legspecifikusabbtól (pl.: E4031) a kevésbé szelektív hatóanyagig (pl.: BaCl_2) kell haladjunk, hogy a legpontosabb eredményeket kaphassuk. Ez alapján, a szívizomsejtek kifelé irányuló ionáramain végzett kísérleteink során a mért áramok sorrendje a következő volt: I_{Kr} , I_{Ks} , I_{to} , I_{K1} . Az áramok gátlásához használt anyagokat és koncentrációikat a 1. táblázat tartalmazza. Minden farmakon esetében hatásának stabilizálódásáig perfundáltuk a sejtet az adott oldattal (4-5 perc). Az adott oldat perfúziója során felvett áramjelek utolsó 20 ciklusának átlagát tekintettük kompenzációs áramnak, majd kivontuk a referenciaáramból, ami ilyenkor mindig az előzőleg alkalmazott anyag kompenzációs árama (kivéve az első alkalmazott anyag esetében), így megkaptuk az adott gátlószer szenzitív áramát.

ionáram	gátlószer	koncentráció
I_{Kr}	E-4031	1 μM
I_{Ks}	HMR-1556	0.5 μM
I_{to}	Chromanol 293b	100 μM
I_{K1}	BaCl_2	50 μM

1. táblázat: Az onion-peeling méréseink során használt csatornablokkolók és koncentrációik

4.6 Statisztika

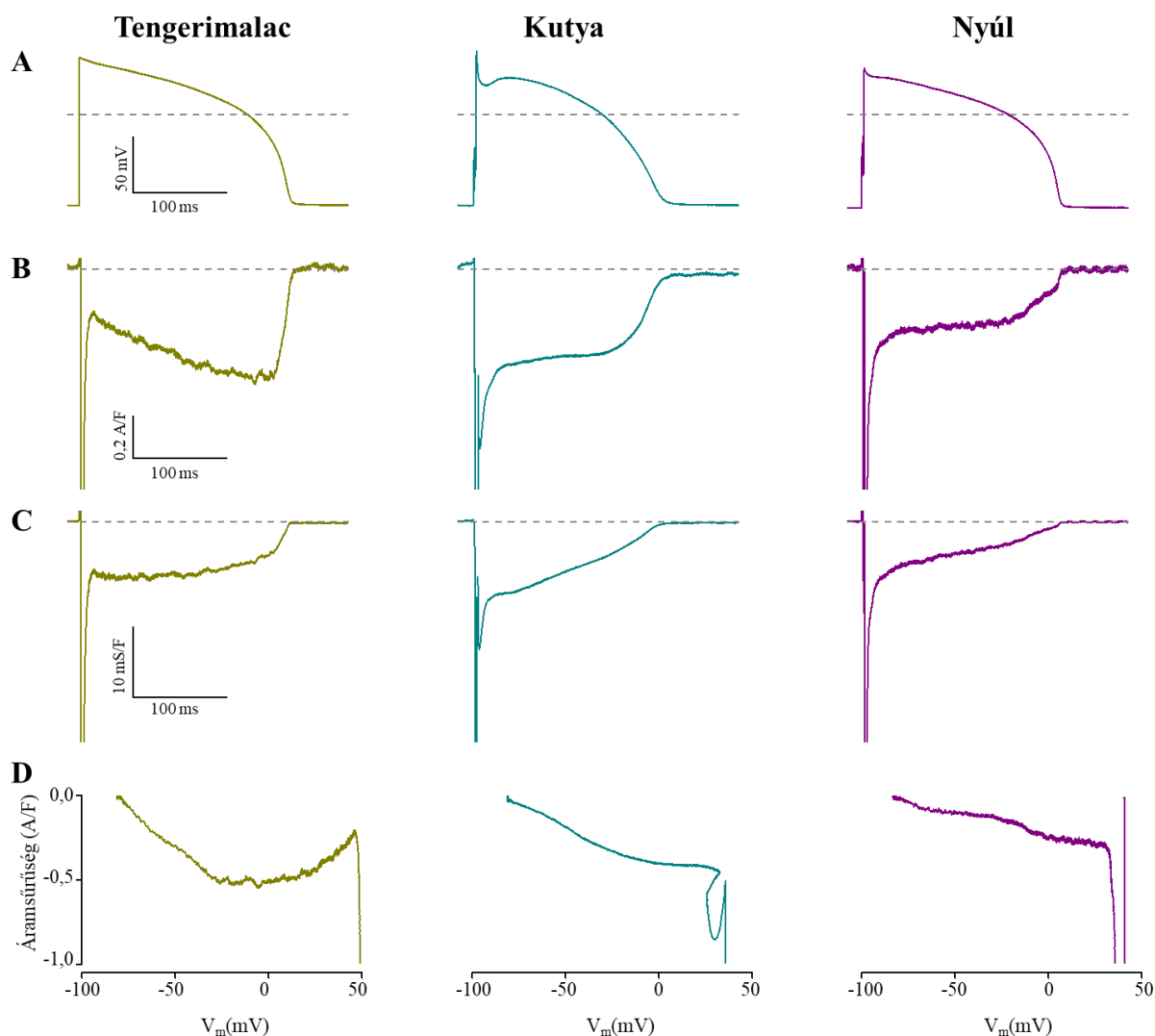
A dolgozatban szereplő adatokat a mérési eredmények átlaga \pm SEM-ben fejeztük ki. A különbségek statisztikai szignifikanciáját egyutas ANOVA-val értékeltük melynél posthoc tesztként Tukey tesztet végeztünk (JASP 0.17.2.0, The JASP Team). Az eredményeket akkor tekintettük szignifikánsnak, ha a p érték 0.05-nél kisebbnek adódott.

5. Eredmények

5.1 *A késői nátriumáram-profil és konduktancia változásai kutya, nyúl és tengerimalac szívizomsejteken*

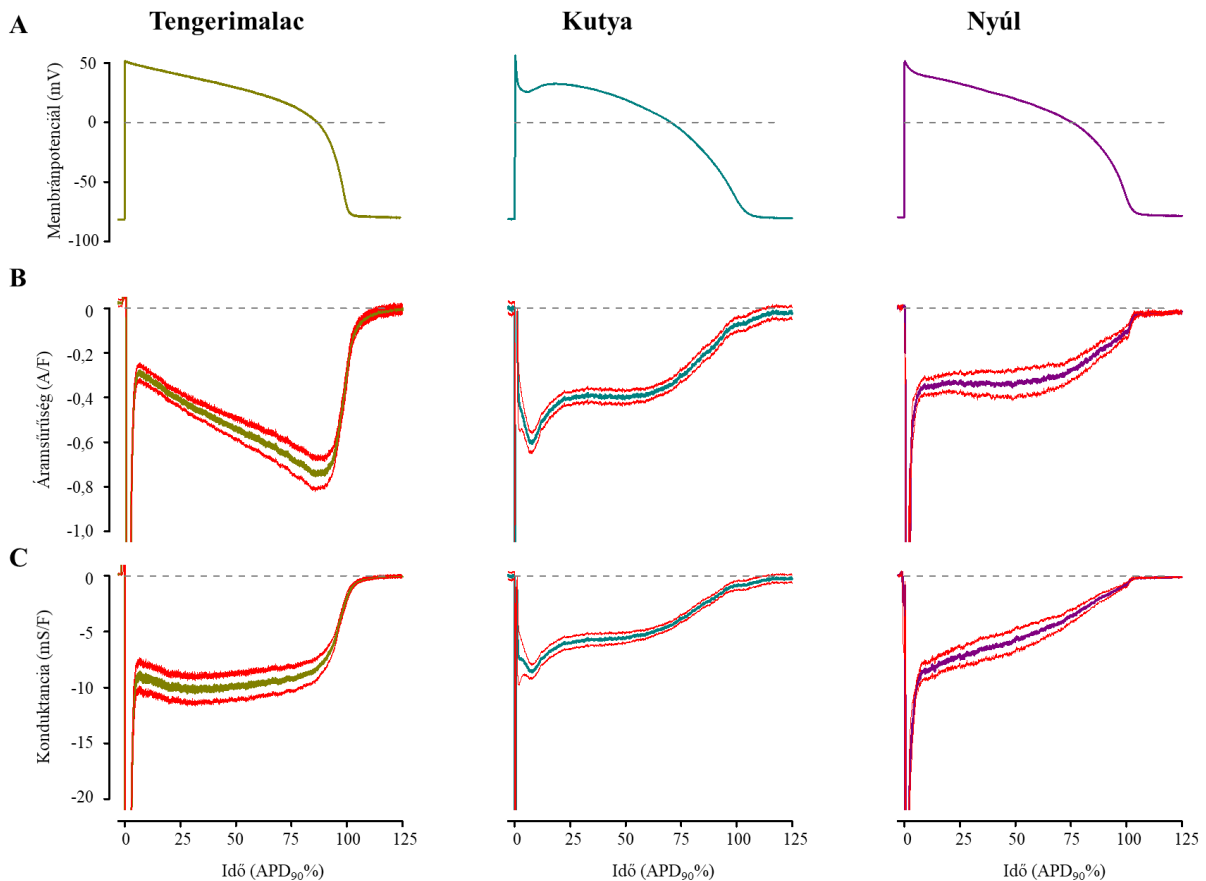
5.1.1 **Natív $I_{Na,late}$ profilok kontroll körülmények között**

Kutatásunk elején kutya, nyúl és tengerimalac szívizomsejteken vizsgáltuk a késői nátriumáram alakját és az AP alatti nátriumkonduktanciát (18. ábra). Ezen APVC mérések esetében a sejtek saját AP-ját használtuk parancsimpulzusként. A konduktancia számolásánál a $I_{Na,late}$ értékeit elosztottuk a Na^+ ionokra ható hajtóerővel, amit az aktuális membránpotenciálnak és a Na^+ ekvilibrum potenciáljának különbségként számítottunk ki (ez +85.3 mV-nak adódott, aminek számolásához a következő értékeket vettük alapul: $[Na^+]_e = 146$ mM, $[Na^+]_i = 6$ mM, $T = 310$ K). Az $I_{Na,late}$ áramsűrűsége nagyjából állandó volt az AP plató fázisa alatt, ám a 3-adik fázisban, a sejtmembrán repolarizációja alatt lecsökkent kutya és nyúl miocitákban (18. ábra B). Ezen méréseknél a $G_{Na,late}$ végig egyenletesen csökkent (18. ábra C). A tengerimalac sejtek AP-jának plató fázisa alatt az $I_{Na,late}$ folyamatosan nőtt, míg a $G_{Na,late}$ változatlan maradt. A mérések áram-feszültség összefüggésének alakja szintén eltért a tengerimalac-sejteknél a kutya és nyúl szívizomsejteknél tapasztaltakhoz képest (18. ábra D).



18. ábra: APVC technikával rögzített reprezentatív $I_{Na,late}$ (B), és $G_{Na,late}$ (C) profilok, tengerimalac (okkersárga), kutya (türkizkék) és nyúl (lila) kamrai szívizomsejteken. Az $I_{Na,late}$ -et a 10 μ M TTX-szenzitív áram első 20 ms utáni részeként definiáltuk. A sejtek saját AP-ját használtuk parancsként (A). Az áram-feszültség összefüggések a (D) panelen láthatóak

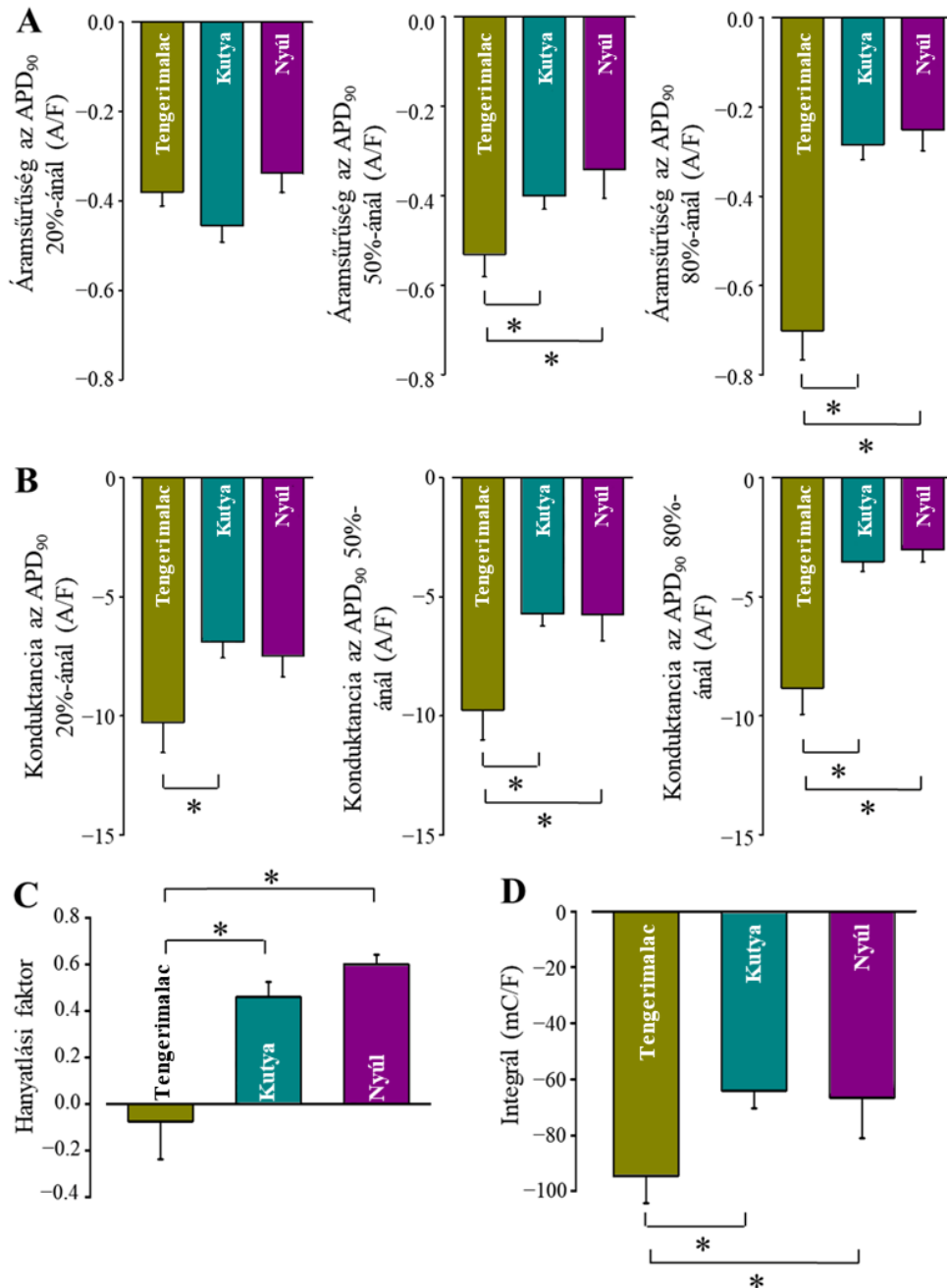
Ahhoz, hogy az egyedi eredmények összehasonlíthatók legyenek, az $I_{Na,late}$ és $G_{Na,late}$ értékeket normalizáltuk az időtengelyen elfoglalt helyük alapján, ahol az AP-k repolarizációjának 90%-ánál mért időt (APD_{90}) tekintettük 100%-nak. Ezek alapján látható, hogy a kutya és nyúl szívizomsejteken mért $I_{Na,late}$ és még inkább $G_{Na,late}$ görbéi decrescendo alakot mutattak, vagyis amplitúdójuk az AP felszálló szárától a 3-adik fázisáig csökkent. Ezzel szemben a tengerimalacok $I_{Na,late}$ amplitúdója crescendo alakban nőtt az AP platója alatt, és csak a terminális repolarizáció során kezdett csökkenni (19.ábra B), a $G_{Na,late}$ viszont nem mutatott változást ezen a szakaszon (19.ábra C).



19. ábra: 18 tengerimalac (okkersárga), 15 kutya (türkizkék) és 6 nyúl (lila) szívműködésén APVC technikával felvett $I_{Na,late}$ (B) és $G_{Na,late}$ (C) profilok átlaga és szórása (piros). A jobb összehasonlíthatóság érdekében $I_{Na,late}$ és $G_{Na,late}$ értékeket normalizáltuk az időtengelyen elfoglalt helyük alapján, ahol az AP-k repolarizációjának 90%-ánál mért időt (APD_{90}) tekintettük 100%-nak. Az (A) panelen reprezentatív parancs AP-k láthatóak.

Megmértük a $I_{Na,late}$ és $G_{Na,late}$ értékeit az APD_{90} érték 20, 50 és 80 százalékánál, mindhárom vizsgált faj sejtjein (20. ábra A és B). Az 18. és 19. ábrákon látható konduktanciaváltozások arra engednek következtetni, hogy a $G_{Na,late}$ hanyatlásának mértéke nagyobb kutya és nyúl szívműködés esetén, mint a tengerimalacok sejtjein. A $G_{Na,late}$ hanyatlásának mértékének számításához a $G_{Na,late}$ csökkenését vettük figyelembe az APD_{90} 20 és 80 százaléka között, majd az APD_{90} 20%-ánál mért $G_{Na,late}$ értékre normalizáltuk az eredményt (röviden: „hanyatlási faktor” = $(G_{20\%}-G_{80\%})/G_{20\%}$). Ez a hanyatlási faktor ténylegesen kisebbnek bizonyult a tengerimalac izomsejtjei esetében ($-0,07 \pm 0,16$, $n=18$), mint a kutya ($0,46 \pm 0,06$, $n=15$), vagy a nyúl ($0,60 \pm 0,04$, $n=6$) szívműködés esetén (20. ábra C). Bár a $G_{Na,late}$ hanyatlása gyorsabb volt nyulakban, mint kutyákban ez a különbség nem bizonyult

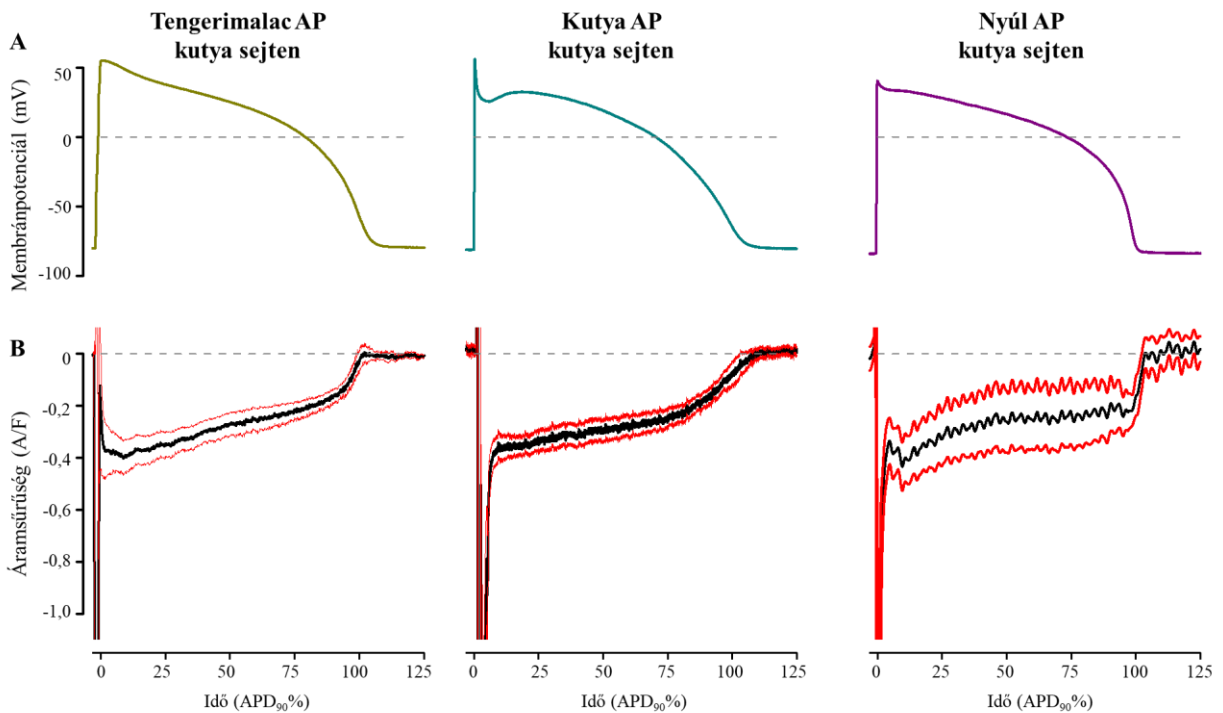
szignifikánsnak. Az $I_{Na,late}$ által szállított töltés mennyisége (amelyet az átlag-áramgörbék integráljának tekintettünk) nagyjából megegyezett a nyúl (-66,5±14,6 mC/F) és kutya (-64,2±6 mC/F) szívműködése esetén, viszont szignifikánsan nagyobb volt a tengerimalac sejtekben (-94,6±6 mC/F) (20. ábra D).



20. ábra: A késői nátriumáram sűrűségének (A) és konduktanciájának (B) normalizált értéke az APD₉₀ 20, 50 és 80%-ánál mérve tengerimalac (okkersárga), kutya (türkizkék) és nyúl (lila) kamrai szívműködése esetén. A hanyatlási faktor ($G_{20\%}-G_{80\%}/G_{20\%}$ -ként definiálva) és az áramintegrál értékek 15 kutya, 6 nyúl és 18 tengerimalac szívműködése esetén mért értékek átlagai. A szignifikáns eltéréseket *-gal jelöltem (p < 0,05).

5.1.2 A parancsjel alakjának hatása a késői nátriumáramra

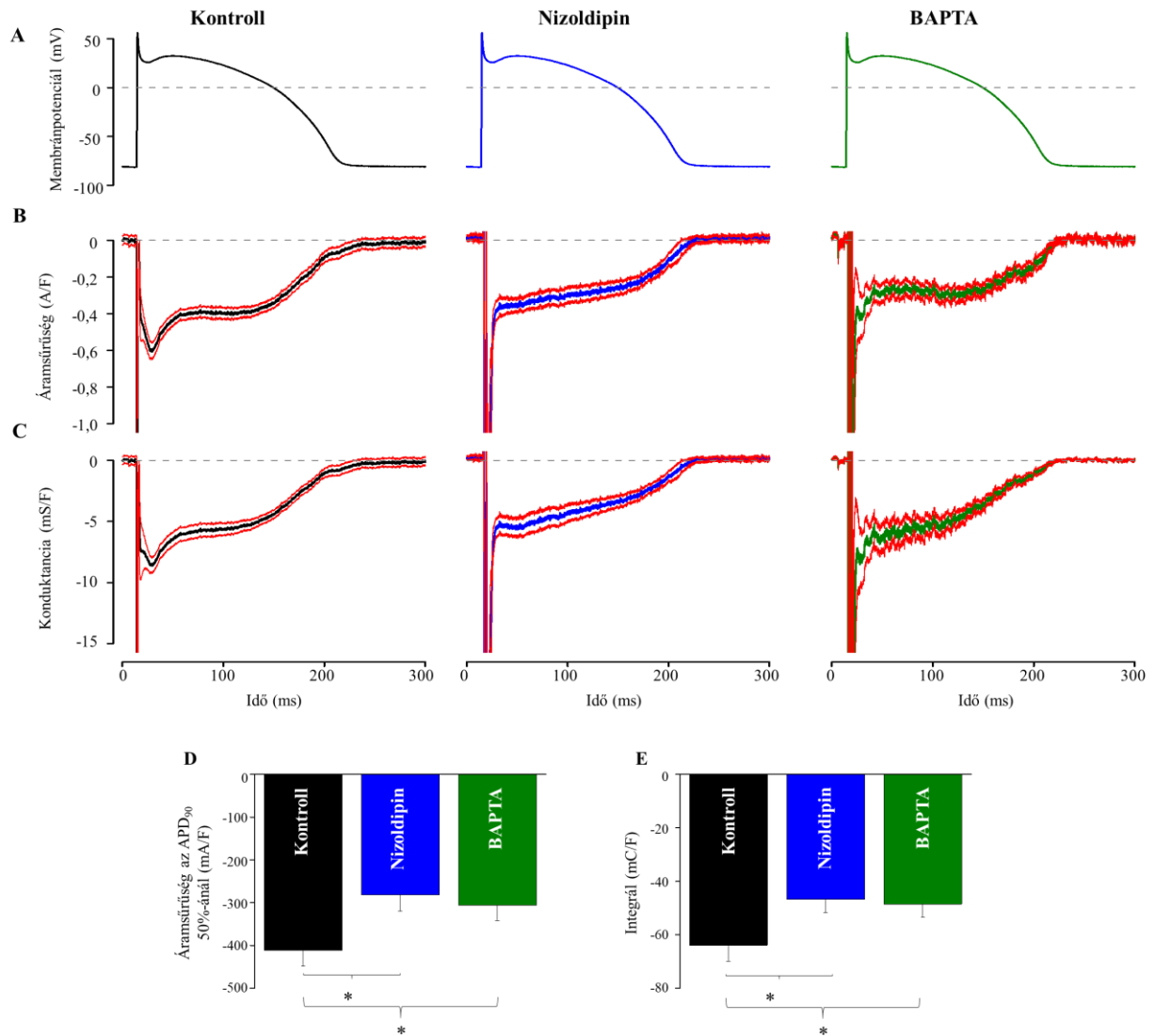
Az APVC technika alatt mért áramprofilokat a feszültségparancsként alkalmazott AP sajátságai befolyásolják [83,108]. Így, annak érdekében, hogy kiderítsük, hogy a $G_{Na,late}$ profilok közti különbség csak az eltérő AP paramétereknek köszönhető, vagy a Na^+ csatorna-kapuzás fajok közti különbségének eredménye [177], nyúl és tengerimalac szívizomsejtek által generált kanonikus akcióspotenciált használtunk kutya szívizomsejtek feszültségparancsaként. Ezen kísérletek során $1 \mu M$ nizoldipin-t adtunk a sejtek perfúziós oldatához, hogy a sejtek intracelluláris $[Ca^{2+}]$ -ja közötti különbségből adódó inhomogenitást kiküszöböljük. A különböző parancs AP-k ellenére az $I_{Na,late}$ alakja továbbra is a kutya $I_{Na,late}$ -re jellemző, monoton csökkenést mutatott (21. ábra). Emellett fontos eredmény az is, hogy az áramgörbék integrálja sem változott a parancs AP-k eltérő eredetétől függetlenül (kutya AP: $-48,5 \pm 5$ mC/F, $n=19$; tengerimalac AP: $-49,9 \pm 8.4$ mC/F, $n=8$; nyúl AP: $-57,0 \pm 22.2$ mC/F, $n=4$).



21. ábra: A parancs AP alakjának hatása a kutya kamrai szívizomsejt $I_{Na,late}$ profiljára. (A) A használt kanonikus parancs AP. (B) $I_{Na,late}$ profilok átlaga az időtengelyen elfoglalt helyük alapján, ahol az AP-k repolarizációjának 90%-ánál mért időt (APD₉₀) tekintettük 100%-nak. A fekete vonal az átlagot, a piros a SEM értékeket reprezentálja.

5.1.3 A kalcium szerepe a késői nátriumáram szabályozásában

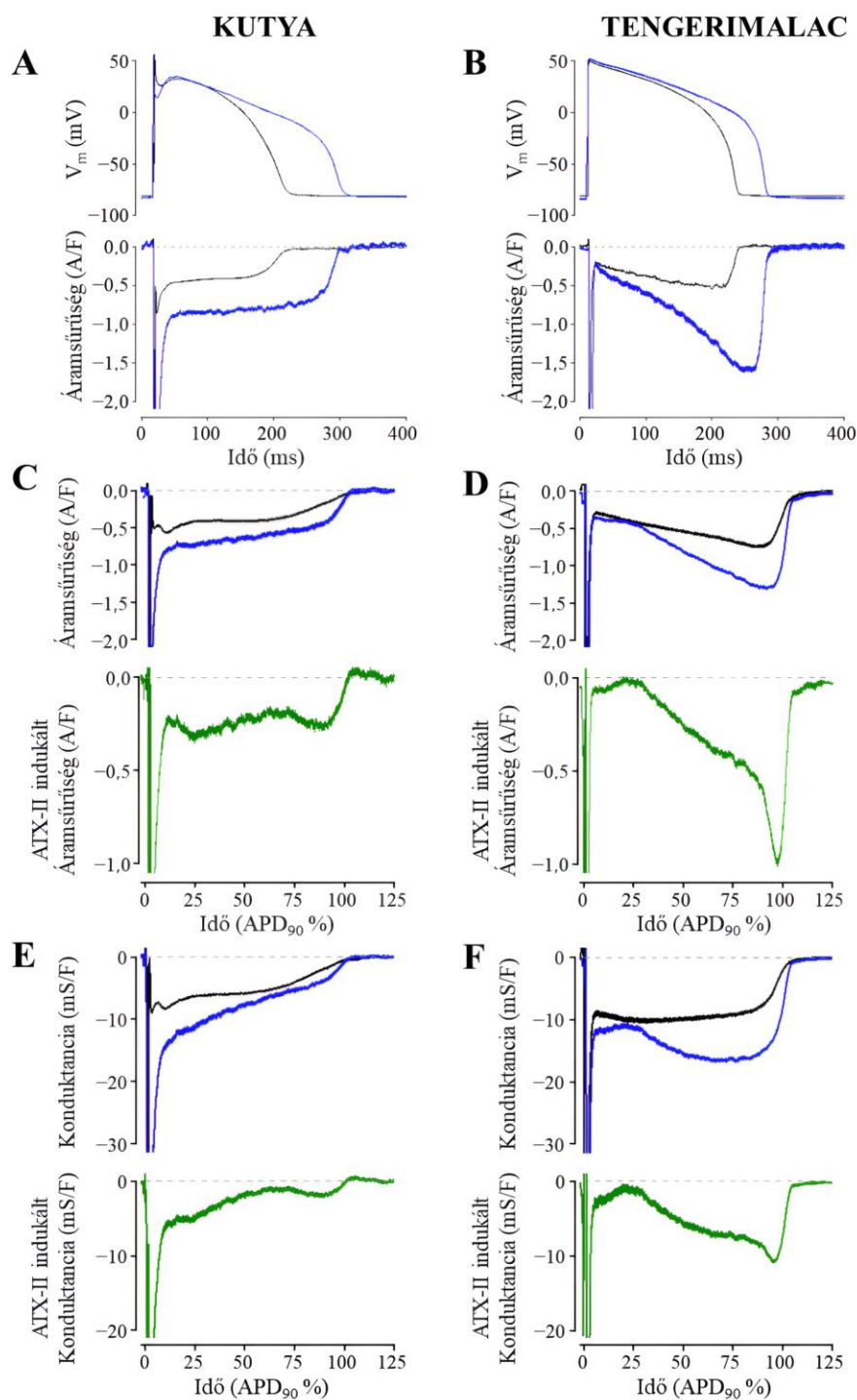
Annak kiderítése érdekében, hogy a $[Ca^{2+}]_i$ milyen szerepet játszik az $I_{Na,late}$ szabályozásában és, hogy van-e hatása annak konduktanciájára, a citoszol Ca^{2+} tartalmát $1\mu M$ nizoldipin, vagy 10 mM BAPTA alkalmazásával csökkentettük (22. ábra). A nizoldipint a sejtek perfúziós oldatához adtuk, míg a BAPTA-t a patchpipetták belső oldatához kevertük. Utóbbi esetben a mérést 10 perccel a sejtmembrán áttörése után kezdtük meg, hogy a BAPTA hatásának kialakulására legyen elég idő. Az $I_{Na,late}$ amplitúdója kisebb volt nizoldipin alkalmazása esetén ($-330 \pm 30\text{ mA/F}$ vs. $-457 \pm 38\text{ mA/F}$ az APD_{90} 20%-ánál, és -282 ± 38 vs. $-412 \pm 37\text{ mA/F}$ az APD_{90} 50%-ánál $p < 0,05$, $n = 19$ vs. $n = 15$), habár az APD_{90} 80%-ánál mért különbség nem volt szignifikáns. BAPTA jelenlétében az AP minden szakaszán szignifikánsan kisebb volt az $I_{Na,late}$ amplitúdója (-277 ± 44 vs. $-457 \pm 38\text{ mA/F}$ az APD_{90} 20%-ánál, -306 ± 36 vs. -412 ± 37 az APD_{90} 50%-ánál, és -223 ± 32 vs. $-284 \pm 34\text{ mA/F}$ az APD_{90} 80%-ánál, $p < 0,05$, $n = 11$ vs. $n = 15$). A $G_{Na,late}$ az $I_{Na,late}$ amplitúdójához hasonlóan kisebb volt nizoldipinben ($5,0 \pm 0,5\text{ mS/F}$ vs. $6,9 \pm 0,7\text{ mS/F}$ az APD_{90} 20%-ánál, és $4,0 \pm 0,5$ vs. $5,9 \pm 0,6\text{ mS/F}$ az APD_{90} 50%-ánál), de a változás csak az APD_{90} 80%-ánál mért értékeknél volt szignifikáns ($2,0 \pm 0,3\text{ mS/F}$ vs. $3,5 \pm 0,4\text{ mS/F}$). Ezek alapján kijelenthető, hogy nizoldipinben főleg az AP kezdeti szakaszán volt kisebb a $G_{Na,late}$, míg BAPTA jelenlétében inkább a későbbi részekben. Az áram integrálok viszont mind a BAPTA mind a nizoldipin esetében egyformán kisebbek voltak ($-48,5 \pm 5\text{ mC/F}$ vs. $-63,9 \pm 6\text{ mC/F}$ és $-46,7 \pm 5$ vs. $-63,9 \pm 6\text{ mC/F}$).



22. ábra: 1 μM extracelluláris nizoldipin (kék, $n=19$) és 10 mM intracelluláris BAPTA (zöld, $n=10$) hatása a kutya kamrai szívizomsejtek késői nátriumáram sűrűség ($I_{\text{Na,late}}$, **B**) és konduktancia ($G_{\text{Na,late}}$, **C**) profiljaira (az ábrán az átlagolt áramprofil, és körülötte a szórás [piros] látható). A $I_{\text{Na,late}}$ áramsűrűségét (**D**) és az áram által szállított töltés mennyiségét (integrál, **E**) mind a Nizoldipin, mind a BAPTA szignifikánsan csökkentette. (**A**) A használt parancs AP.

5.1.4 Az ATX-II hatása kutya és tengerimalac szívizomsejtekre

Az *Anemonia sulcata* toxinja (Anemone toxin II, ATX-II) a Na^+ csatornák gyors inaktivációjának gátlása révén egy $I_{\text{Na,late}}$ -re nagyon hasonlító áramot indukál a szív ingerlékeny szöveteiben [178,179]. Ezen hatása miatt tanulmányoztuk 10 nM ATX-II hatását tengerimalac, valamint 1 nM ATX-II hatását kutya szívizomsejteken (23. ábra). Utóbbi esetben azért volt szükség alacsonyabb koncentrációra, mert 10 nM ATX-II perfúziója során a kutya szívizomsejtek nagyjából 3 perc elmúlása után korai utódepolarizációkat produkáltak. Ezzel bizonyítottuk, hogy a kutya izomsejtek nátrium csatornái érzékenyebbek az ATX-II-re mint a tengerimalac izomsejteké. Ezen mérések esetében is a 10 μM TTX-szenzitív áramot tekintettük $I_{\text{Na,late}}$ -nek. Az ATX-II megnyújtotta mind a kutya mind a tengerimalac szívizomsejtek AP-ját, és növelte az $I_{\text{Na,late}}$ amplitúdóját (23. ábra A és B). Mivel az ATX-II jelenlétében és hiányában regisztrált $I_{\text{Na,late}}$ -ek külön mérések során kerültek felvételre, így csak az átlagolt $I_{\text{Na,late}}$ (23. ábra C és D) és $G_{\text{Na,late}}$ (23. ábra E és F) profilokat tudtuk összehasonlítani a SEM értékek nélkül. Bár az ATX-II által kialakított áram alakja nem egyezett meg pontosan a natív $I_{\text{Na,late}}$ -mal, alakja mindkét fajban hasonló volt (kutyában „decrecendo”, tengerimalacban „crescendo”) natív megfelelőjéhez. Ezzel ellentétben, míg tengerimalac szívizomsejteken a natív konduktancia nagyjából állandó volt az AP platója alatt, addig az ATX-II alkalmazásakor mért $G_{\text{Na,late}}$ emelkedő tendenciát mutatott ugyanezen a szakaszon. Ennek megfelelően kutya szívizomsejteken a $G_{\text{Na,late}}$ hanyatlási faktora ATX-II jelenlététől függetlenül hasonló maradt ($0,54 \pm 0,06$, $n = 6$ és $0,46 \pm 0,06$, $n = 15$). Tengeri malacoknál a hanyatlási faktor ATX-II jelenlétében jóval kisebb érték volt, mint ATX-II nélkül ($-0,95 \pm 0,81$, $n=4$ vs. $-0,07 \pm 0,16$, $n=18$, $p<0,05$), vagyis az AP terminális repolarizációjának idejére a konduktancia tovább nőtt.

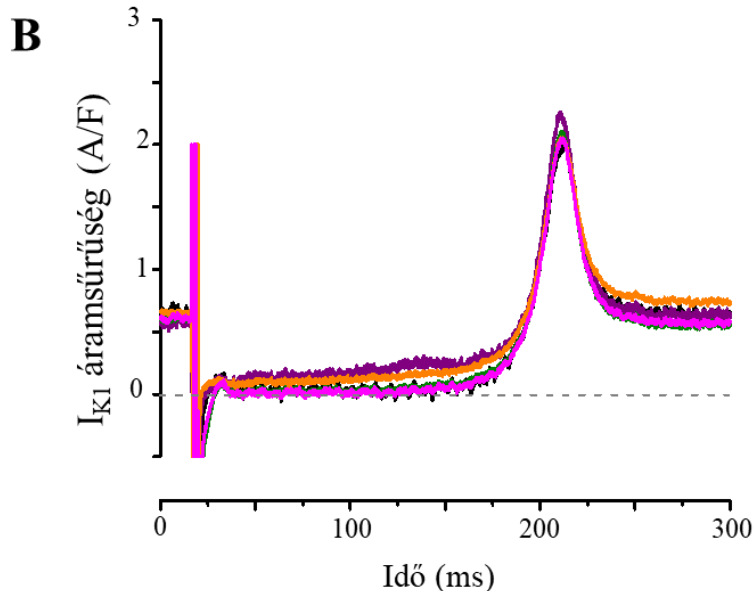
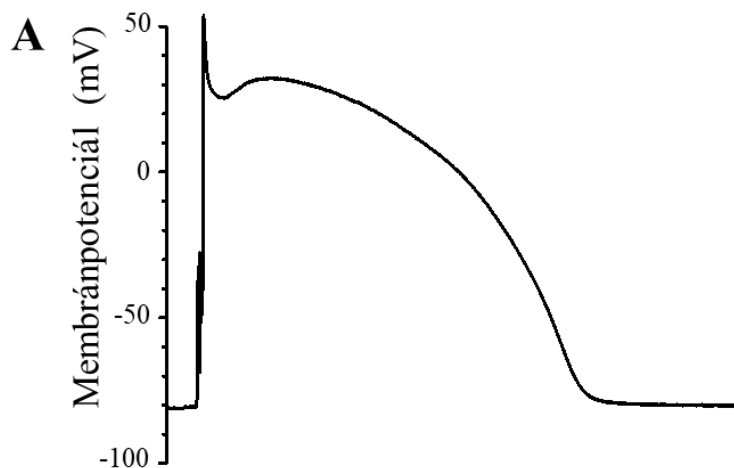


23. ábra: Az ATX-II hatása a TTX-szenzitív áramra kutya (**bal**) és tengerimalac (**jobb**) kamrai szívizomsejteken. Az (A,B) paneleken reprezentatív AP-k és TTX-érzékeny áramok láthatóak ATX-II adása előtt (fekete) és után (kék). Az ATX-II koncentrációja kutya izomsejtek esetén 1 nM míg tengerimalac izomsejtek esetén 10 nM volt. A (C-F) paneleken időre normalizált áram és konduktancia látható a korábbival megegyező színekkel, alattuk pedig zölddel 6 kutya és 4 tengerimalac szívizomsejten mért ATX-II érzékeny áram időre normalizált sűrűsége, és konduktanciája látható (zöld).

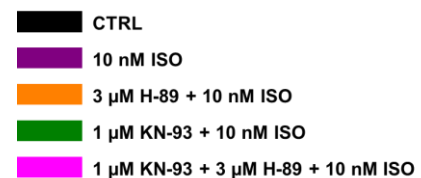
5.2 *Kutyaszív bal kamrai izomsejtjeinek befelé egyenirányító káliumáramának CaMKII útvonal általi β -adrenerg aktivációja:*

5.2.1 Az I_{K1} paramétereinek változása az akciós potenciál alatt

Kísérletsorozatunk elején öt csoportban vizsgáltuk az I_{K1} áram APVC technikával mért tulajdonságait: kontroll, 10 nM ISO-val β -adrenerg stimulált, β -adrenerg stimulált, de 1 μ M KN-93-mal kezelt β -adrenerg stimulált, de 3 μ M H-89-cel kezelt és β -adrenerg stimulált, de mind KN-93-mal, mind H-89-cel kezelt sejtcsoportok (23.ábra).

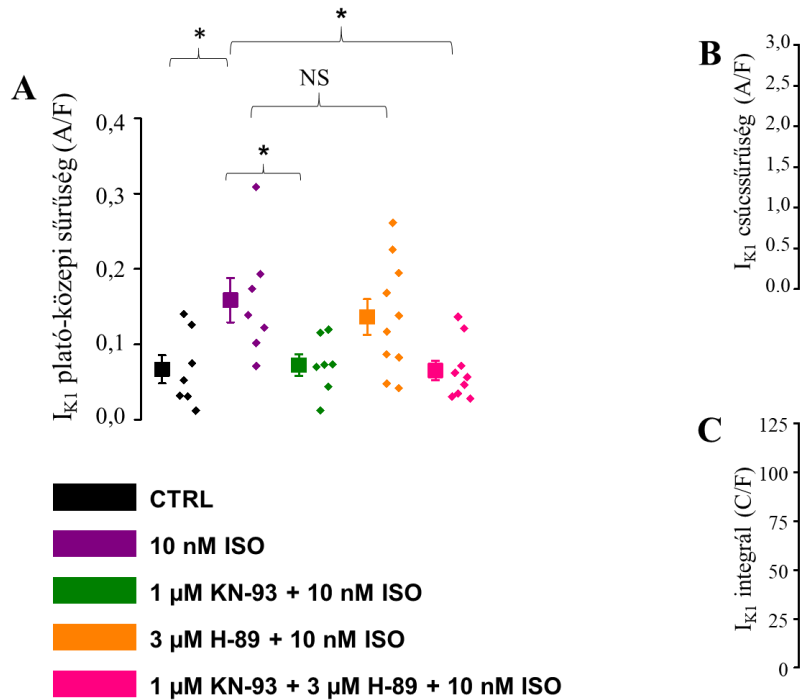


24.ábra: Parancs akciós potenciál (A) és reprezentatív I_{K1} áramok kontroll (fekete), 10 nM isoproterenollal β -adrenerg stimulált (lila), CaMKII 1 μ M KN-93 általi gátlása után β -adrenerg stimulált (zöld), PKA 3 μ M H-89 általi gátlása után β -adrenerg stimulált (narancs), és mindkét kináz gátlása után β -adrenerg stimulált (rózsaszín) esetekben.



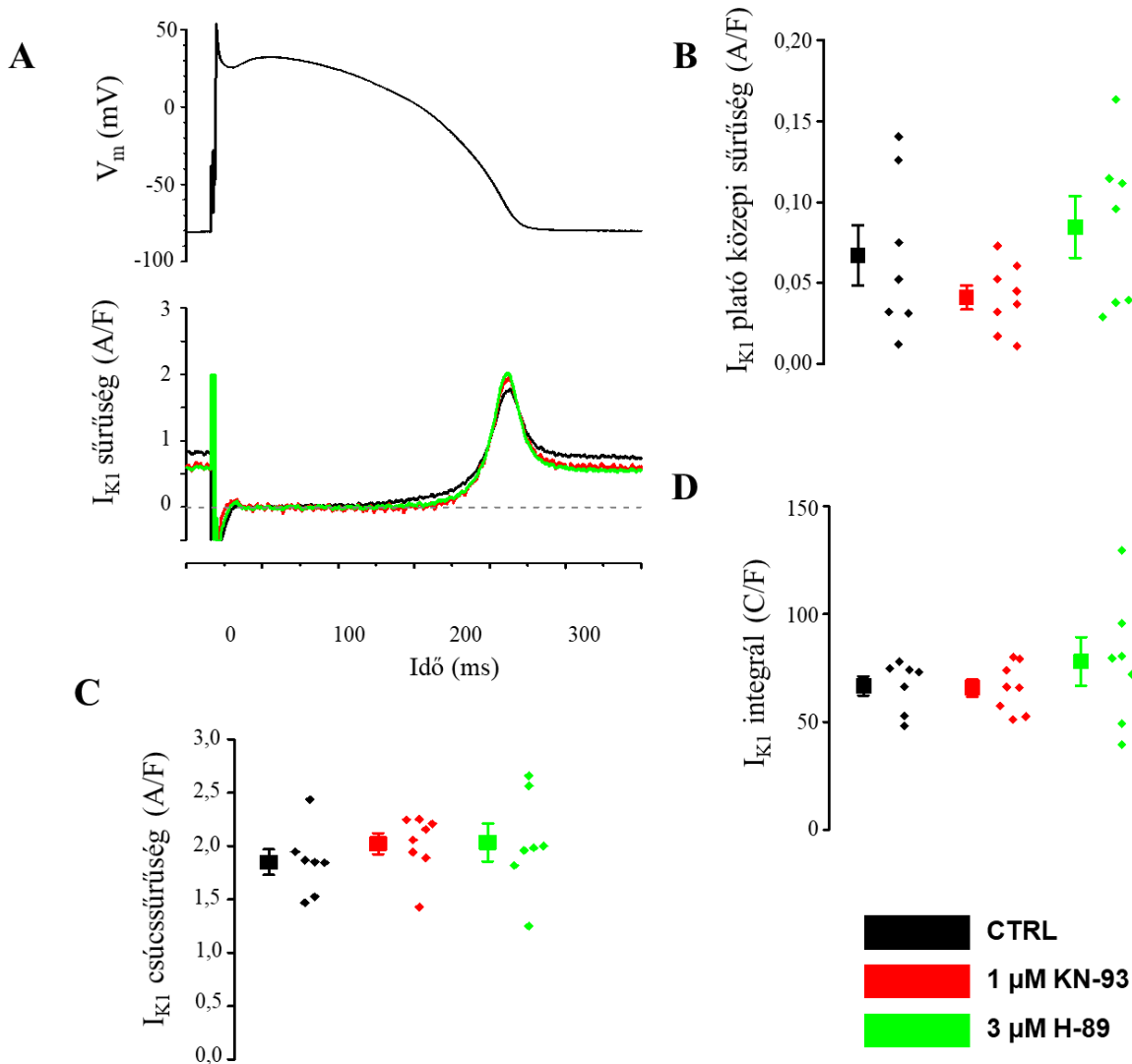
Az ISO általi β -adrenerg stimuláció szignifikánsan megnövelte az I_{K1} áramsűrűségét a parancs AP hosszának felénél (I_{K1} plató közepi sűrűség; kontroll: $0,067 \pm 0,019$ A/F vs ISO: $0,159 \pm 0,029$ A/F, $n=7$ mindkét csoportnál (25.ábra A)). Ezt a hatást a KN-93 előkezelés gátolta

($0,073 \pm 0,014$ A/F, $n=9$), de a H-89 nem volt hatással rá ($0,136 \pm 0,024$ A/F, $n=10$) (25. ábra A). Amikor a sejtek kombináltan, KN-93 és H-89 előkezelést kaptak ($0,065 \pm 0,013$ A/F, $n=7$), az I_{K1} áram plató közepi sűrűsége megközelítette a kontroll és csak KN-93-mal előkezelt esetekben mért értékeket. Az I_{K1} egyéb paramétereire, mint az áram terminális repolarizáció alatt mért csúcssűrűsége (kontroll: $1,849 \pm 0,120$ A/F vs ISO: $1,967 \pm 0,159$ A/F), vagy a teljes áramintegrál (kontroll: $66,7 \pm 11,7$ mC/F vs ISO: $77,6 \pm 8,1$ mC/F) érdekes módon a β -adrenerg stimulációnak nem volt szignifikáns hatása (25. ábra B, C).



25. ábra: Az I_{K1} paramétereit az öt vizsgált sejtcsoport esetén. Az adatokat öt sejtcsoporton mértük kontroll (fekete, $n=7$), ISO-val β -adrenerg stimulált (lila, $n=7$), CaMKII KN-93 általi gátlása után β -adrenerg stimulált (zöld, $n=7$), PKA H-89 általi gátlása után β -adrenerg stimulált (narancs, $n=9$), és mindkét kináz gátlása után β -adrenerg stimulált (rózsaszín, $n=9$) sejteken. (A) plató közepi áramsűrűség, (B) csúcs sűrűség, (C) áramintegrál. A négyzetek és vonalak az átlag \pm szórás, a pontok az egyes lemért sejtek adatai. A csillagok (*) a csoportok közti szignifikáns ($p < 0,05$) eltéréseket jelölik, NS: nem szignifikáns.

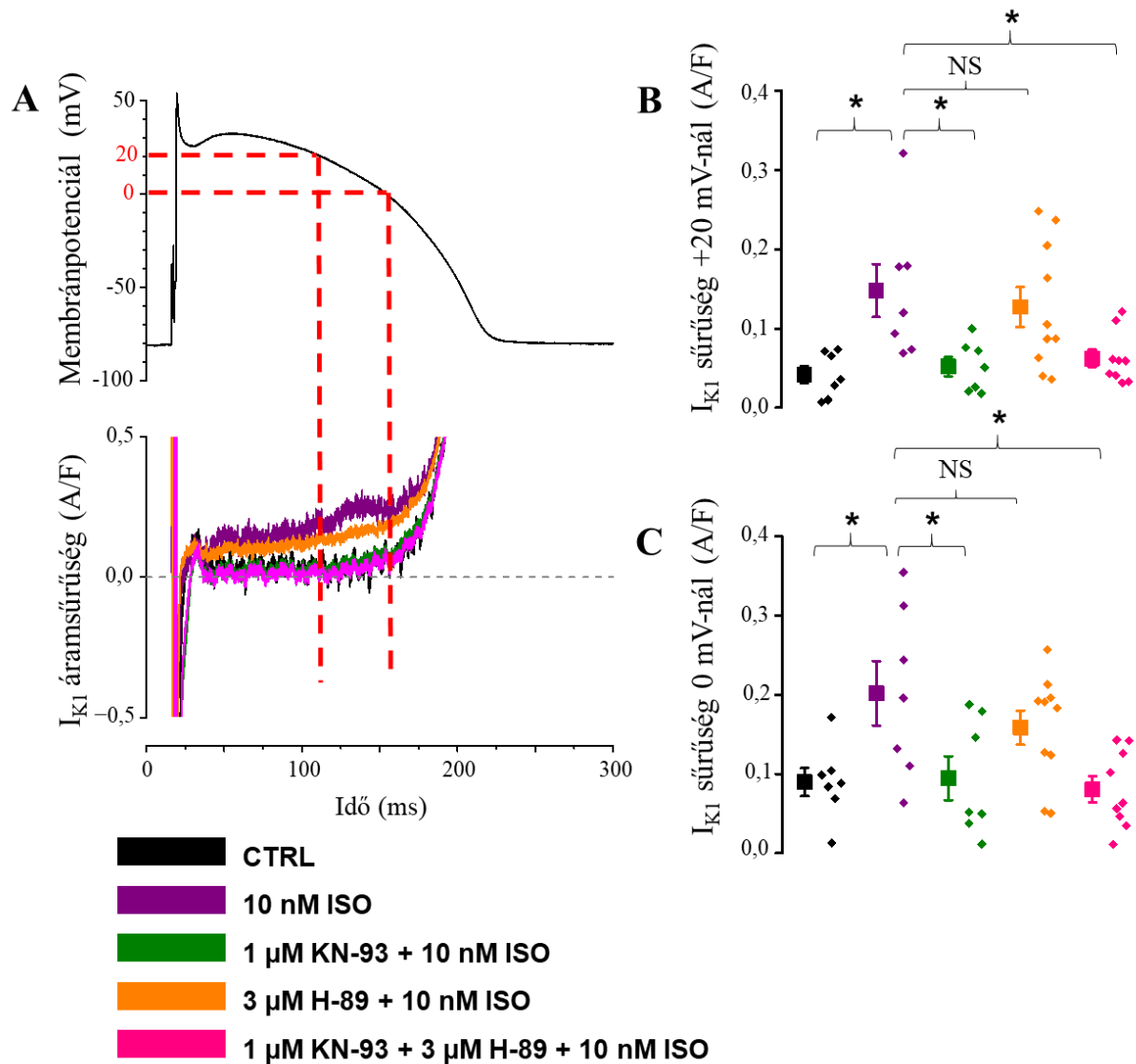
Annak érdekében, hogy biztosak lehessünk benne, hogy a CaMKII és PKA gátlás hatása nem változtat jelentősen az áramon, megvizsgáltuk a KN-93 és a H-89 hatását az I_{K1} -re ISO nélkül is. Egyik gátlószer mellett sem tapasztaltunk eltérést a kontroll értékekhez képest sem az áramsűrűség, sem az áramintegrál eredményeinkben (26. ábra).



26. ábra: Sem a CaMKII KN-93-mal történő, sem a PKA H-89-cel történő gátlása nincs hatással az I_{K1} -re kontroll körülmények között, három sejtcsoporton vizsgálva: kontroll (fekete, n=7), KN-93 előkezelt (piros, n=8) és H-89 előkezelt (zöld, n=7). (A) parancs AP (felül) és reprezentatív I_{K1} áramok (alul). (B) plató közepi áramsűrűség, (C) csúcs sűrűség, (D) áramintegrál. A négyzetek és vonalak az átlag \pm szórás, a pontok az egyes sejtek adatai. Az adatcsoportok átlagai közt egyik esetben sem volt szignifikáns eltérés egyutas ANOVA-t használva.

5.2.2 β -adrenerg hatás, fókuszban az AP plató

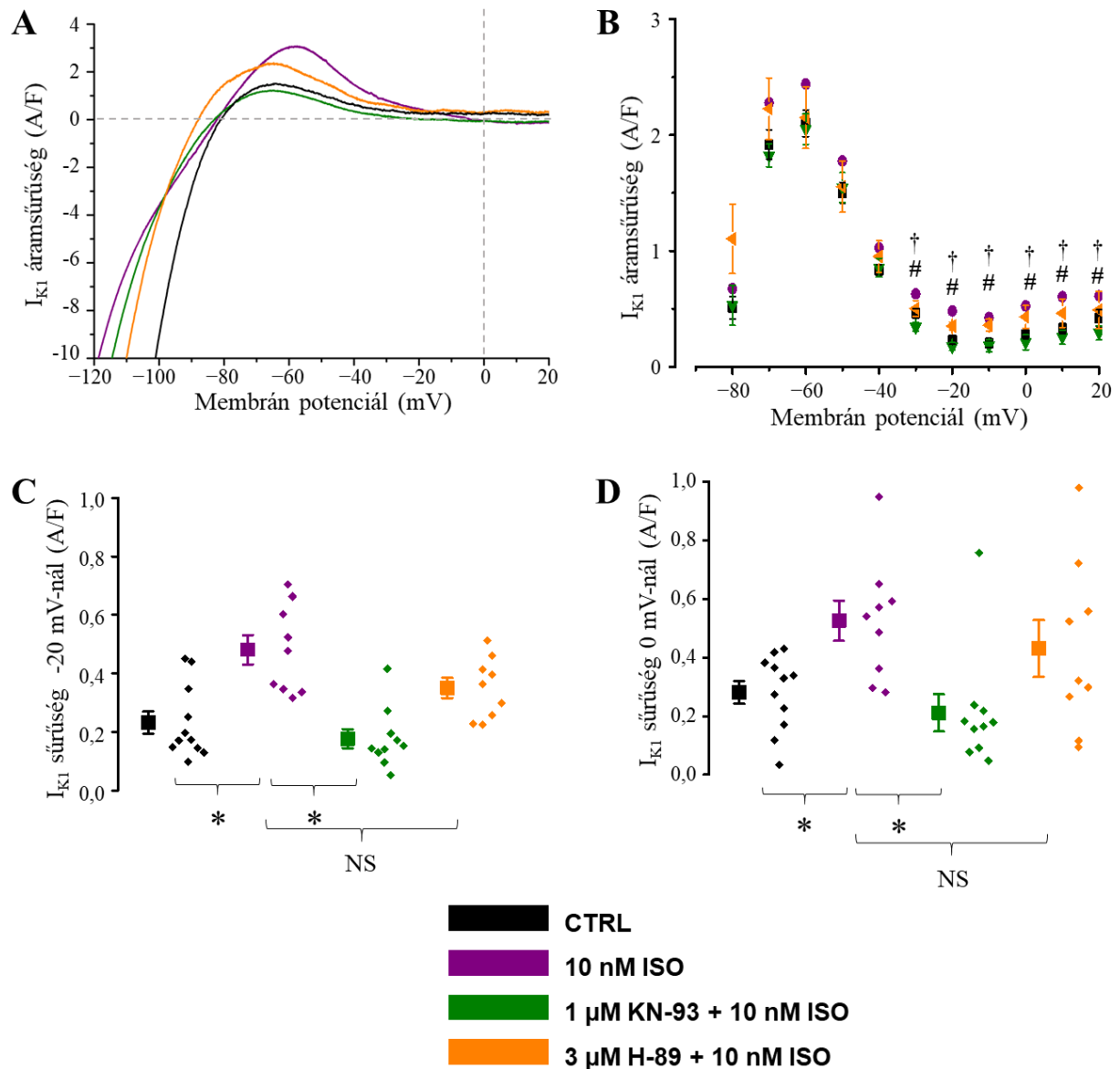
A korábbi eredményeink arra utalnak, hogy az I_{K1} β -adrenerg jelátviteli útvonal általi felerősödése az AP 2. fázisa, azaz a plató alatt történik. Ezért a korábbi méréseink eredményeinek analízisét erre a szakaszra fókuszáltuk. Így az I_{K1} áramsűrűségét két fix membránpotenciálértéknél elemeztük, +20 mV, ami a plató közepi membránpotenciál, és 0 mV, ami pedig a repolarizáció gyors szakaszán mérhető (27. ábra A). A 27. ábra B és C panelén látható, hogy eredményeink megfeleltek a korábban tapasztaltaknak. Az I_{K1} áramsűrűsége szignifikánsan megnő ISO hatására (+20 mV-nál: $0,148 \pm 0,034$ A/F, 0 mV-nál: $0,202 \pm 0,041$ A/F) képest. Ezt a hatást a KN-93 gátolta (+20 mV: $0,052 \pm 0,012$ A/F, 0 mV: $0,095 \pm 0,028$ A/F), a H-89 viszont nem (+20 mV: $0,127 \pm 0,025$ A/F, 0 mV: $0,159 \pm 0,022$ A/F).



27. ábra: A méréseinknél használt parancs akciós potenciál (felül), és kinagyított, reprezentatív I_{K1} áramok (alul) (A). A szaggatott vonalak a vizsgált 0 és +20 mV-os membránpotenciálérték helyét jelölik. B és C: az I_{K1} áramsűrűségértékei +20 és 0 mV-nál vizsgálva, 5 sejtcsoporton. kontroll (fekete, n=7), ISO (lila, n=7), KN-93 előkezelés után (zöld, n=7), H-89 előkezelés után (narancs, n=9), kombinált, KN-93 és H-89 előkezelés után (rózsaszín, n=9). A négyzetek és vonalak az átlag \pm szórás, a pontok az egyes lemért sejtek adatai. A csillagok (*) a csoportok közti szignifikáns ($p < 0,05$) eltéréseket jelölik, NS: nem szignifikáns.

5.2.3 β -adrenerg stimulált I_{K1} konvencionális voltage clamp-pel

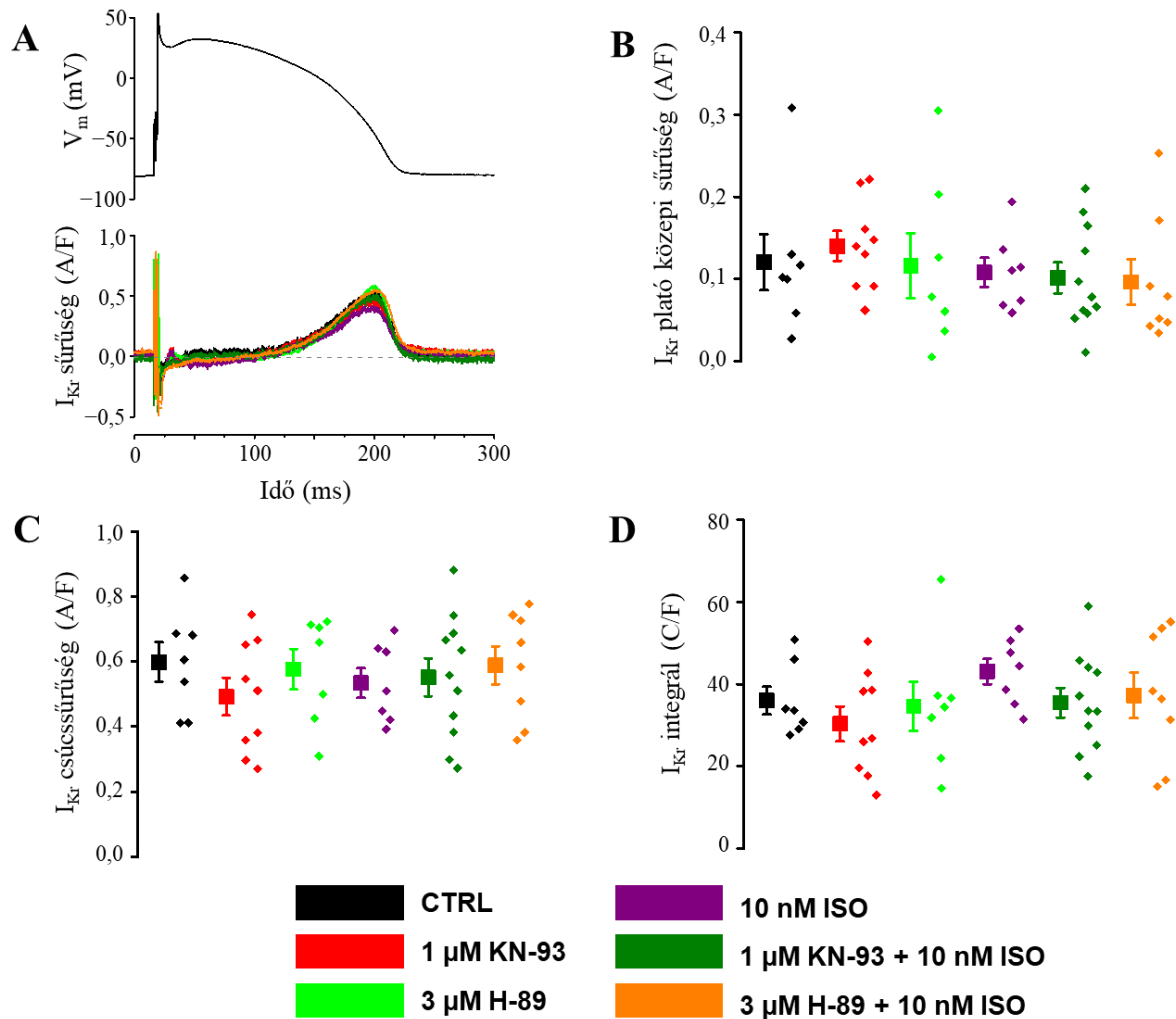
Az előzőekhez hasonló eredményeket kaptunk, amikor az ISO, és a kináz inhibitorok hatásait konvencionális voltage clamp módszerrel vizsgáltuk -80 és +20 mV között. -30 és +20 mV között az I_{K1} áramsűrűsége jelentősen megnő β -adrenerg stimuláció hatására a kontroll sejtcsoporthoz képest. Ezt a változást a CaMKII gátlása megszünteti, a PKA gátlása viszont nincs hatással rá (28. ábra). 0 mV-nál az I_{K1} áramsűrűség értékei a következőknek adódtak: kontroll (n=10): $0,266 \pm 0,042$ A/F, ISO előkezelés után (n=9): $0,211 \pm 0,067$ A/F, KN-93 és ISO előkezelés után (n=10): $0,211 \pm 0,067$ A/F, míg H-89 és ISO előkezelés után (n=9): $0,431 \pm 0,103$ A/F. -30 mV-nál negatívabb membránpotenciál értékeknél nem tapasztaltunk szignifikáns eltéréseket.



28.ábra: Az ISO, a KN-93 és a H-89 hatásai az I_{K1} áramsűrűsége konvencionális voltage clamp módszerrel mérve négy sejtcsoporton: kontroll (fekete, n=10), ISO kezelt (lila, n=9), ISO hatás KN-93 előkezelés után (zöld, n=10), ISO hatás H-89 előkezelés után (narancs, n=9). **A**: reprezentatív $BaCl_2$ -érzékeny áramok voltage-clamp-pel, **B**: I_{K1} áramsűrűségek különböző 250 ms hosszú teszt-potenciálokön (x-tengelyen feltüntetve), -80 mV holding-potenciálról indulva, a kereszt (\dagger) a kontroll és ISO előkezelt csoport közötti, a kettőskereszt (#) az ISO és KN-93+ISO előkezelt csoportok közötti szignifikáns ($p < 0,05$) eltéréseket jelöli. A -20, és 0 mV-on mért áramsűrűségek részletesen a **C** és **D** panelen vannak bemutatva, a csillag (*) a csoportok közti szignifikáns ($p < 0,05$) eltéréseket jelöli, NS: nem szignifikáns.

5.2.4 Az I_{Kr} és a β -adrenerg stimuláció

Kutatásunk során megvizsgáltuk mind az ISO, mind a fent említett kináz gátlószerek (KN-93, H-89) hatását a kamrai szívizomsejtek egyik fő repolarizáló áramára, az I_{Kr} -re is a korábbiakkal megegyező körülmények között (önmagukban, és kombinálva is) APC módszerrel. Sem a β -adrenerg stimuláció, sem annak gátlása nem volt hatással sem az I_{Kr} áram profiljára, sem áramsűrűségére és az áramintegrál értékekre sem (29.ábra).



29. ábra: 10 nM ISO, 1 μ M KN-93, 3 μ M H-89, illetve ezek kombinációjának hatása az I_{Kr} -re. A mérési csoportok: kontroll (fekete, n=7), KN-93 előkezelt (piros, n=8), H-89 előkezelt (zöld, n=7), ISO kezelt (lila, n=7), ISO hatás KN-93 előkezelés után (sötétzöld, n=11), ISO hatás H-89 előkezelés után (narancs, n=9). **A**: parancs AP (felül) és reprezentatív I_{Kr} -áramgörbék (alul). **B**: plató közepi áramsűrűség, **C**: csúcs sűrűség, **D**: áramintegrál. A négyzetek és vonalak az átlag \pm szórás, a pontok az egyes lemert sejtek. Az átlagok közt nem találtunk szignifikáns eltérést egyutas ANOVA-val.

6. Megbeszélés

6.1 *A késői nátriumáram tulajdonságainak fajok közti különbségei*

6.1.1 **A nátriumcsatornák konduktanciájának fajfüggése**

A késői nátriumáramon végzett kutatásaink során munkacsoportunk tanulmányozta először a kutya, nyúl és tengerimalac szívizomsejtek késői nátriumáramának konduktancia változásait az AP alatt. Kutya és nyúl izomsejtek esetében a konduktancia monoton csökkent az AP plató fázisa alatt. Ezzel szemben, tengerimalacok szívizomsejtjeinek $G_{Na,late}$ -je változatlan maradt az AP ugyanezen szakaszán, viszont hirtelen csökkenést mutatott a terminális repolarizáció fázisában. A konduktanciaváltozás ezen különbségei megmagyarázhatják, miért nagyobb amplitúdójú a $I_{Na,late}$ tengerimalac szívizomsejtek AP-jának plató fázisa alatt, mint kutya vagy nyúl izomsejtek esetén (ábrák). A nátriumcsatornák inaktíválódásának nyomon jellemzésére bevezettük a hanyatlási faktort mérőszámot, ami jóval nagyobbak bizonyult nyúl és kutyasejtek esetén, jelezve, hogy a Na^+ csatornák nagyrésze már inaktívált a terminális repolarizációra ezeknél a fajoknál. Ennek eredményeképp, a terminális repolarizáció szakaszára megnőtt hajtóerő nem tudja számottevően megnövelni az $I_{Na,late}$ amplitúdóját kutyák és nyulak esetében, tengerimalacoknál viszont igen. Ezt megmagyarázza, hogy tengerimalacok esetén a $I_{Na,late}$ inaktívációjának 20 mV-on kapott időkonstansa konvencionális voltage clamp módszerrel vizsgálva, 2,5-szer hosszabb, mint kutyákban [72].

A $G_{Na,late}$ számolásához a pipetta belső oldatának Na^+ koncentrációját (6 mM) tekintettük a sejt intracelluláris Na^+ koncentrációjának. Ez viszont csak egy hozzávetőleges érték, mivel a nátrium koncentrációja a citoszol egyéb részein jócskán eltérhet a nátriumcsatornák közvetlen közelében észlelhetőtől, az itt lejátszódó transzport folyamatok miatt [180–182]. Emellett ingerelt sejtekben a sejtmembrántól távolabbi citoszol részek $[Na^+]_i$ -ja is folyamatos változást mutat [183,184]. Ezen folyamatokat figyelembe véve az általunk használt sejtek szubsarkolemmális nátrium koncentrációja elérheti a 8-9 mM-t is. Ennek következtében, ahogy a Na^+ koncentrációja nő, úgy csökken az egyensúlyi-potenciálja. Így, 8 mM-os $[Na^+]_i$ -nál a mi számításainkban használt +85.3 mV helyett a reverzál potenciál értéke mindössze +77.6 mV-nak adódik. A kisebb reverzál potenciál kisebb hajtóerőt generál a nátriumnak, ami nagyobb Na^+ áteresztőképességet eredményez a számítások során. Mivel hasonló megközelítő Na^+ koncentrációkat alkalmaztunk mindhárom faj esetén, nem találtunk nagy eltéréseket a koncentrációk dinamikájában e három faj esetében, ezért valószínűleg

hasonló mértékben becsültük alul mindhárom faj $G_{Na,late}$ -ját. Így feltételezhető, hogy az $I_{Na,late}$ meglétéért inkább a sejtmembrán Na^+ áteresztő-képessége felel, mintsem az aktuális $[Na^+]$.

6.1.2 Az $I_{Na,late}$ és az akciós potenciál kapcsolata

A tengerimalac kamrai szívizomsejtek $I_{Na,late}$ -ának monoton növekvő formája az AP platója alatt a nátriumcsatornák a Clancy és társai által leírt nem-egyensúlyi kapuzásával magyarázható [66]. Modelljük szerint a $I_{Na,late}$ a lassú, rámpaszerű repolarizáció miatt „felgyűlik” az AP 2. fázisa alatt. Várakozásainkkal ellentétben viszont a késői nátriumáram profilja nem változott meg kutya szívizomsejteken, akár tengerimalac, akár nyúl kamraisejtekről felvett AP-t alkalmaztunk parancspotenciálnak. Ezzel kapcsolatban érdemes észben tartani azt is, hogy bár a nyúl és tengerimalac szívizomsejtek morfológiája jórészt megegyezik, mind az $I_{Na,late}$ mind a $G_{Na,late}$ profiljuk jelentősen eltér egymástól. Emiatt arra a következtetésre jutottunk, hogy a tengerimalac izomsejtekénél megfigyelt monoton növekvő áramprofil a repolarizáció alatt megnőtt hajtóerő és a lassú Na^+ csatorna inaktivációs kinetika hatásainak együttese eredményezi. Mivel a késői nátriumáramot nem csak a $Na_{v1.5}$ [53,86,185] hozza létre, hanem más izoformák is közrejátszanak, így ezen alegységek arányának és eloszlásának eltérései is közre játszhatnak az áram fajok közti különbségeinek kialakításában. A késői nátriumáram inaktivációs kinetikájának fajok közti különbözőségeit ezért érdemes tovább vizsgálni.

6.1.3 Az $I_{Na,late}$ aritmogén hatása

Mivel a $I_{Na,late}$ profilja jelentős különbségeket mutat a fajok között, az AP alakját is különbözőképp formálja, amikor az APD változik. A tengerimalac szívizomsejtek monoton növekvő árama miatt feltételezhetjük, hogy az AP nyúlásával nő az áram hozzájárulása is az AP kialakításához. Mivel az áram sűrűségének maximumát a repolarizáció végső szakaszán éri el, így ha az APD bármilyen okból kifolyólag megnő, például K^+ csatornablokkolók hatására, az egy megnövekedett befelé irányuló $I_{Na,late}$ áramot fog eredményezni. Ez visszahatva tovább növelheti az APD-t. Emellett a nagyobb $I_{Na,late}$ miatt kialakult Na^+ és Ca^{2+} terhelés aritmiai táptalaja lehet.

Ezzel szemben a nyúl és kutya szívizomsejtek monoton csökkenést mutató áramsűrűségű $I_{Na,late}$ -ja a terminális repolarizáció felé haladva egyre kisebb részben járul hozzá az AP kialakításához hosszabb AP esetén. Ez megfordítva is igaz, az alacsony terminális áramsűrűség miatt az APD változásának nem lesz szignifikáns hatása az $I_{Na,late}$ -ra kutya és nyúl kamrai

izomsejtek esetében. Ezzel együtt a $I_{Na,late}$ -ot csökkentő mechanizmusok is kisebb szereppel bírnak kutya vagy nyúl szívizomsejteken. Ezt mindenképp figyelembe kell venni azon farmakológiai és elektrofiziológiai vizsgálatok esetében, melyek tengerimalac szívizomsejteket használnak modellként a $I_{Na,late}$ vizsgálatára, mivel az APVC technikával felvett emberi $I_{Na,late}$ profil leginkább a kutya és nyúl szívizomsejtek áramprofiljára hasonlít [72].

6.1.4 Az ATX-II által létrehozott ionáram tulajdonságai tengerimalac és kutya szívizomsejteken

A késői nátriumáramon végzett kutatásaink kimutatták azt is, hogy APVC technikával vizsgálva az ATX-II által létrehozott áram növekszik az AP plató fázisa alatt, az ATX-II-indukált $G_{Na,late}$ alakja jelentős eltérést mutat a natív konduktanciához képest tengerimalac szívizomsejteken. Ez a konduktanciák közötti eltérés jelenthetné az ATX-II Na^+ csatornához való kötődését, ebben az esetben viszont az eltérésnek jelen kellene lennie kutya szívizomsejtek esetében is. A másik magyarázat a nátriumcsatornák korábban említett nem-egyensúlyi kapuzása [66]. A jelenleg elérhető kutatási adatok alapján nem lehet eldönteni, hogy az előzőekben leírt kettő lehetőség közül melyik áll a konduktancia-különbség hátterében.

Mivel az ATX-II ismert hatása, hogy gátolja a Na^+ csatornák inaktivációját [178], így gyakran használt eszköz a $I_{Na,late}$ patológiás megnövekedésének szimulációjára [86]. A korábban leírt eredményeink miatt az ATX-II ebből a célból történő használata elég félrevezető eredményekhez vezethet tengerimalac kamrai szívizomsejteken végzett kísérletek esetében. Emellett az ATX-II kötődése megváltoztathatja a tengerimalac izomsejtek Na^+ csatornáinak hatóanyag-szenzitivitását is, ami nehézkessé teszi a tengerimalac preparátumokon végzett kísérletek eredményeinek értelmezését.

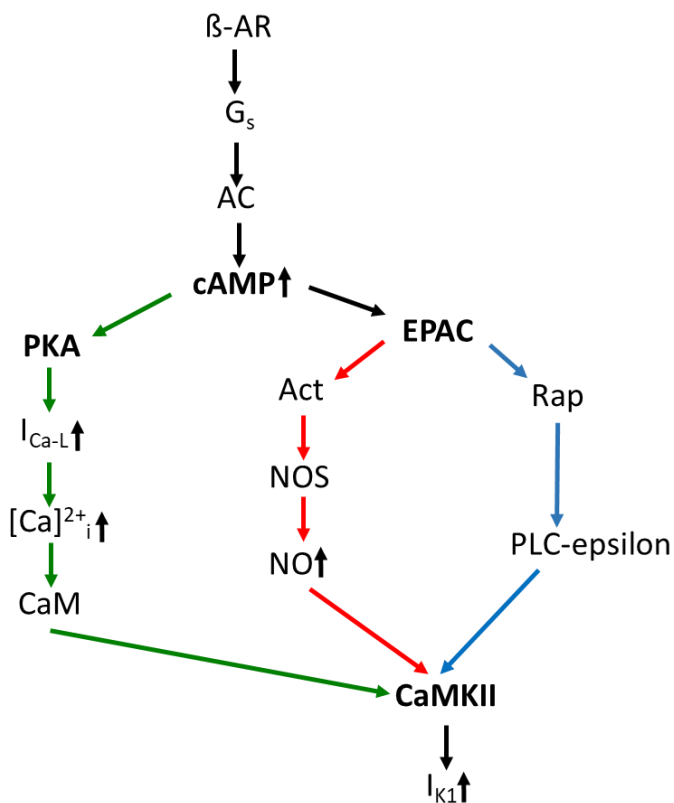
6.2 A β -adrenerg stimuláció hatása a kamrai szívizomsejtek káliumáramaira

6.2.1 A CaMKII útvonal felelős a β -adrenerg hatások kialakításáért az I_{K1} esetében

Kísérleteink során a szívizomsejtek 10 nM ISO-val történő perfundálásával vizsgáltuk a β -adrenerg stimuláció hatását az AP terminális repolarizációjáért felelős két fő káliumáramra, az I_{K1} -re és az I_{Kr} -re. Az I_{K1} amplitúdója megnőtt az ISO kezelés hatására, az I_{Kr} áram paraméterei azonban nem változtak. Kísérletsorozatunk mutatta ki elsőként, hogy kutyában a β -adrenerg jelátviteli út I_{K1} -re kifejtett hatásaiért nem a PKA a felelős, ugyanis az ISO hatását a PKA gátló H-89-cel történő előkezelés nem változtatta meg. Ezzel szemben a CaMKII gátló KN-93 megszüntette az ISO hatását, ami arra enged következtetni, hogy a β -

adrenerg serkentés a CaMKII enzimem keresztül fejt ki az áramot erősítő hatásait. Kijelenthetjük azt is, hogy a két útvonal között (PKA, és CaMKII) nincs szinergia sem, ugyanis, ha a két kináz gátlószerét kombinációban alkalmaztunk eredményeink nem különböztek attól, amikor a KN-93-at önmagában használtuk. Kizárhatjuk azonban a PKA és a CaMKII alapaktivitásának befolyásoló funkcióját az I_{K1} árammal kapcsolatban, ugyan is β -adrenerg serkentés nélkül egyik kináz gátlása sem befolyásolta az áramot.

Arra, hogy a CaMKII hogyan erősíti fel az I_{K1} -et, az irodalomban található adatok alapján két lehetőség merül fel (30.ábra). Egy korábbi kutatásban [186] a β -adrenerg stimuláció megnövelte a CaMKII aktivitást egy NO függő, de cAMP független módon tengerimalac szívizomsejteken. Ez egy új, NO szintázon keresztüli CaMKII aktiváló útvonal jelenlétére enged következtetni. Emellett rágcsáló szívizomsejteken 100 nM ISO hatását a CaMKII-delta nitrozilációja mediálja [187], de a NO megemeli a CaMKII aktivitását és a $K_{ir2.1}$ áram áramsűrűségét emberi pitvarból származó szívizomsejteken is [188]. Több tanulmány kimutatta az EPAC fehérje szerepét is a CaMKII aktivációjában [35,189,190]. Nyúl és rágcsáló szívizomsejtekkel kapcsolatban került felvetésre, hogy a CaMKII egy cAMP \rightarrow EPAC \rightarrow NO \rightarrow CaMKII szekvencián keresztül aktiválódik [191], de egy alternatív cAMP \rightarrow EPAC \rightarrow Rap \rightarrow PLC-epsilon szekvencia is felfedezésre került [189]. Továbbá a β -arrestinek és a hozzájuk kapcsolódó szignalizómák szerepét sem lehet elvetni [192].



30. ábra: Az I_{K1} β -adrenerg receptor mediálta aktivációjának lehetséges útvonalai. Zöld nyilak: PKA jelátviteli út, piros nyilak: NO kapcsolt jelátviteli út, kék nyilak: PLC-epsilon kapcsolt jelátviteli út

6.2.2 A β -adrenerg stimuláció az I_{K1} -et is csak részben befolyásolja

Kutatásunk során azt tapasztaltuk, hogy az ISO az I_{K1} áramsűrűségét is csak az AP plató fázisának megfelelő membránpotenciál-tartományban növelte meg, de annál negatívabb értékeken, például a terminális repolarizáció szakaszán, ahol az áram amplitúdója a legnagyobb, nem befolyásolta azt. Ez a felfedezés arra enged következtetni, hogy a β -adrenerg hatás sem az aktív $K_{ir2.1}$ csatornák számát, sem azok átteresztőképességét nem befolyásolja, habár utalhat két ellentétes folyamat (megnőtt konduktancia, de csökkent csatornaexpresszió) jelenlétére is. Eredményeink azt sugallják inkább, hogy a csatornák befelé egyenirányító tulajdonságát csökkenti a CaMKII általi foszforiláció, így egy nagyobb kifelé irányuló I_{K1} áram jöhet létre a pozitív membránpotenciál tartományban. Hasonló foszforiláció-függő módosulást tapasztaltak a $K_{ir2.1}/KCNJ2$ csatornák R67Q mutációjánál, ami csökkentette az ISO által kiváltott hatásokat az I_{K1} -en [17].

Egy Nagy és társai által végzett kutatás eredményei [193] egybevágóak a mérési eredményeinkkel, az I_{K1} CaMKII általi kalciumfüggő felerősödésével kapcsolatban. Egy jelentős különbség adódott azonban a két kutatás között: míg eredményeink esetében a β -adrenerg serkentés csak az AP platója alatt növelte meg szignifikánsan az I_{K1} amplitúdóját, addig a korábbi kutatás során az áram csúcssűrűsége is megnőtt magasabb $[Ca^{2+}]_i$ mellett. A különbség valószínűleg abból adódik, hogy amíg a mi kísérleteink során a kalciumszintet kizárólag a β -adrenerg serkentéssel változtattuk meg, addig Nagy és társai az I_{K1} kalciumfüggését is vizsgálták alacsony (~160 nM) és magas (~900 nM) $[Ca^{2+}]_i$ mellett, amit a patch pipetta belsejében alkalmazott BAPTA és $CaCl_2$ alkalmazásával értek el.

A miénkhez hasonló kísérleti körülmények mellett, de nyúl kamrai szívműködésen Hegyi és társai [27] is arra az eredményre jutottak, hogy a CaMKII gátlása nem befolyásolja az I_{K1} paramétereit, valamint 10 nM ISO alkalmazása nem változtatja meg az áram csúcssűrűségét normál kalcium homeosztázis mellett. Ezek az adatok összhangban vannak a mi mérési eredményeinkkel (24. ábra B, 25. ábra). A mi kísérleteinknél azonban az ISO hatására jelentősen (23%-kal) megnőtt az I_{K1} által szállított töltés a kontroll körülményekhez képest. Ez a jelentős változás a méréseink során nem mutatkozott meg, viszont a 10 nM ISO-val kezelt sejtek I_{K1} áramintegrálja a mi kísérleteink során is megnőtt 16%-kal (11 mC/F). A szerzők [27] nem tértek ki arra, hogy az I_{K1} áram mely részének változása magyarázza az áramintegrál szignifikáns megnövekedését, viszont mivel a csúcssűrűség nem változott így az I_{K1} amplitúdójának plató alatti növekedése szolgálhat magyarázatul erre a jelenségre, ami szintén megfelel az általunk leírtaknak. A kalcium BAPTA általi pufferelemése után Hegyi és társai nem

találtak szignifikáns eltérést β -adrenerg serkentés után sem az I_{K1} csúcssűrűségében, sem az áram által szállított nettó töltés mennyiségében. A mi kutatásunk során a CaMKII KN-93 általi blokkolása vezetett hasonló eredményekre: a KN-93 megakadályozta az I_{K1} plató alatti amplitúdó növekedését 10 nM ISO hatására és az áram integrálja is hasonlóknak bizonyult a kontroll körülmények között mértékhez. Ezek alapján mindkét kutatás megfigyeléseit magyarázza az, hogy a β -adrenerg serkentés az I_{K1} áramot a CaMKII által aktiválja.

Széles körben elfogadott tény, hogy az I_{K1} -et alapvetően a foszfatidil-inozitol-4,5-biszfoszfát (PIP2) aktiválja [194,195], és hogy a β -adrenerg serkentés a PIP2 koncentrációjának növekedéséhez vezet [196]. Xu és munkatársai kutatásában [196] a szerzők javasolják, hogy a β -adrenerg receptorok aktiválása a foszfatidil-inozitol-4-foszfát-5-kináz gamma (PIP5K γ) PKA-függő foszforilációján és ezáltal aktiválásán keresztül emeli a szívizomsejtek PIP2-szintjét. Szem előtt tartandó viszont, hogy a szerzők 30 μ M H-89-et alkalmaztak extracellulárisan a PKA gátlására. Megjegyzendő, hogy a H-89 a $\beta 1$ (és $\beta 2$) adrenerg receptor ligandhoz kötődésének erős és szelektív gátlója, amelynek megközelítő K_i értéke 350 nM (és 180 nM) humán légúti simaizomsejteken [197]. Ezt a β -receptor-gátló tulajdonságot figyelembe kell venni a H-89 extracelluláris alkalmazásakor. Így a Xu és munkatársainak eredményei [196] a H-89 által okozott β -adrenerg receptor gátlásnak tulajdoníthatók. Ez volt az oka annak is, hogy mi a H-89-et a pipetta belső oldatában, intracellulárisan, és jóval alacsonyabb, 3 μ M koncentrációban alkalmaztuk. Mindezeket figyelembe véve a K_{ir} -csatornák feltételezett CaMKII-függő foszforilációja mellett egy alternatív magyarázat is lehetséges az eredményeinkre. Mivel a β -adrenerg receptor aktiválása növeli a PIP2-szintet, az I_{K1} aktivitását is fokozhatja ezen a mechanizmuson keresztül. Mivel kísérleteinkben az intracellulárisan alkalmazott KN-93 megakadályozta az I_{K1} felerősödését, de a H-89-nek nem volt ilyen hatása, ez a feltételezett mechanizmus egyértelműen nem a PKA által közvetített, és a CaMKII is szerepet játszhat benne.

6.2.3 A β -adrenerg serkentés nincs hatással az I_{Kr} -re

Az I_{Ks} -hez [198,199] és az I_{K1} -hez [13–15] képest az I_{Kr} áramsűrűségét nem változtatta meg az ISO-val történő β -adrenerg aktiváció. Emellett sem a CaMKII, sem a PKA gátlásának sem volt hatása az áramra. Heath és társai szerint tengerimalac szívizomsejteken az I_{Kr} áramsűrűsége megnőtt a PKC aktiválásának hatására [24], de Klare és társai azt találták, hogy a PKA aktivációja csökkentette azt [20]. Ezzel szemben a PKA útvonal aktiválása növelte az I_{Kr} amplitúdóját kutya [23], de csökkentette azt ember, és patkány szívizomsejteken [21,200].

Mivel mind a PKA mind a PKC jelátviteli útvonalak függenek a $[Ca^{2+}]_i$ -tól, nem meglepő, hogy a kalcium az előbb említett hatások mértékét is jelentősen befolyásolja [24]. Hasonlóképp, amennyiben az $[Ca^{2+}]_i$ -t alacsony szinten tartották (EGTA és nifedipin segítségével [23]) az ISO kezelés megnövelte az I_{Kr} áramsűrűségét. Hasonlóképpen, az ISO megnövelte az I_{Kr} áramsűrűségét, alacsony $[Ca^{2+}]_i$ mellett (EGTA kalciumpuffer, és nifedipin Ca^{2+} csatornagátló mellett) konvencionális voltage clamp kísérletekben [23] de a mi kísérleteinkben (intakt kalcium homeosztázis, APVC technika) nem változott. A korábbi irodalmi adatok és kutatásunk eredményeit összevetve arra következtethetünk, hogy a kutyaszív β -adrenerg stimulációja befolyásolja ugyan az I_{Kr} -t viszont feltehetőleg legalább két, ellentétes hatású útvonalon keresztül, melyek normál kalciumháztartás mellett kioltják egymást.

7. Összefoglalás

A bal kamrai szívizomsejtek ioncsatornáinak és ionáramainak szabályozása régóta és széleskörben kutatott téma. Bár a területen számos előrelépés született, továbbra is rengeteg kérdés maradt megválaszoltalanul. Mint a biológiai rendszerek legtöbb eleme, így az ioncsatornák is több szinten szabályozódnak. Egyrészt genetikai szinten, mely hosszútávú adaptációt tesz lehetővé az egyed környezetéhez, illetve az adott faj életviteléhez alkalmazkodva, másrészt viszont jóval rövidebb távú, vegetatív idegrendszeri szabályozás alatt is állnak, hogy az akut változásokra is megfelelő reakciót adjanak.

Munkánk célja az volt, hogy megvizsgáljuk a szívizomsejtek késői nátriumáramát három gyakran alkalmazott gerinces modellen kutyán, tengerimalacon és nyúlon. Kísérleteinket elvégeztük kontroll körülmények között, illetve vizsgáltuk az áram kalciumfüggésének hasonlóságait és különbségeit a fenti három faj esetében. Emellett megvizsgáltuk, hogy a kutya bal kamrai szívizomsejtek káliumáramainak β -adrenerg szabályozásán belül a CaMKII vagy a PKA által mediált útvonalak közül melyik a domináns.

Kísérleteinket akciós potenciál feszültség clamp technikával végeztük. Ezzel hasonlítottuk össze a kutya, nyúl és tengerimalac $I_{Na,late}$ áramait, illetve vizsgáltuk, hogy a parancs akciós potenciál alakja befolyásolja-e az áramprofilt az egyes fajok esetén. Ezzel a technikával és hagyományos feszültség clamp módszerrel is vizsgáltuk a kutya szívizomsejtek káliumáramainak β -adrenerg szabályozását és az annak háttérében álló mechanizmusokat is.

Kutatásunk során megfigyeltük, hogy a kutya és a nyúl folyamatosan csökkenő áramsűrűséget mutató $I_{Na,late}$ -ával szemben a tengerimalac szívizomsejteken ugyanezen ionáram az AP végéig növekedést mutat. Leírtuk továbbá azt is, hogy a $I_{Na,late}$ AP alatti lefutása nem függ a sejtet ingerlő AP alakjától, illetve, hogy az ATXII nagyjából hasonló hatást produkál kutya és tengerimalac szívizomsejteken mint a TTX.

Kutatásunk második felében bizonyítottuk, hogy a kutya szívizomsejtek I_{K1} áramát a β -adrenerg serkentés első sorban az AP plató fázisa alatt növeli, ami a CaMKII útvonalon keresztül, nem pedig a PKA mediálta útvonalon keresztül jön létre. Arra is fény derült, hogy az I_{K1} -t nem befolyásolja szignifikánsan a β -adrenerg stimuláció.

Ezen eredményekkel kutatásunk, ha nem is válaszolta meg az összes kérdést a szívizomsejtek ionáramainak szabályozásával kapcsolatban, de pár lépéssel közelebb kerültünk a teljes kép kialakításához.

8. Summary

The regulation of ion channels, and ionic currents in left ventricular cardiomyocytes is a widely studied topic for a long time. There is a lot of progress in this area, however there are plenty of unanswered questions. Like in most biological systems, the regulation of the ion channels has multiple levels. On one hand, long term regulation is reached through gene expression, which leads to adaptation to habitat and lifestyle, on the other hand short term regulation can be manifested through the autonomic nervous system, in adapting to more acute factors.

The aim of our studies were to describe, and compare the late sodium currents of three, frequently used model animals: dog, rabbit and guinea pig. We did our research in control conditions, as well as, we studied the similarities and differences in the calcium dependence of the late sodium current in the three studeid species. Moreover the effect of β -adrenergic stimulation on the potassium currents of the canine left ventricular myocytes were studied to find out whether it is mediated through the CaMKII or the PKA pathway.

We used the action potential voltage clamp technique and compared the $I_{Na,late}$ current profiles of dog, rabbit and guinea pig cardiomyocytes, and studied their dependence from the contour of the trigger action potential. We used this, as well as conventional voltage clamp techniques to explore the β -adrenergic regulation (and its mechanisms) of the potassium currents of the canine cardiomyocytes.

The results of our research showed that the magnitude of $I_{Na,late}$ in the rabbit and dog cardiomyocytes are largely similar, and gets smaller as the AP progresses, however in guinea pig cells the current displayed increase. Our results indicate that the contour of the trigger AP doesn't affect the profile of $I_{Na,late}$, and that the ATXII has a similar effect on canine and guinea pig cardiomyocytes to the TTX.

In the other part of our studies, we found that β -adrenergic stimulation mostly increase the I_{K1} current of canine cardiomyocytes via the CaMKII pathway but not via PKA. Moreover I_{Kr} was not modified by the β -adrenergic stimulation significantly.

Even if these results can't answer all of our questions about the regulation of the ionic currents of the cardiomyocytes, we made some progress to understand the whole picture.

9. Irodalomjegyzék

1. Zaza, A.; Rosen, M. *An Introduction to Cardiac Electrophysiology*; CRC Press, 2000; ISBN 9780429136382.
2. Abramochkin, D. V.; Filatova, T.S.; Pustovit, K.B.; Voronina, Y.A.; Kuzmin, V.S.; Vornanen, M. Ionic Currents Underlying Different Patterns of Electrical Activity in Working Cardiac Myocytes of Mammals and Non-Mammalian Vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol. -Part A Mol. Integr. Physiol.* **2022**, *268*, 111204, doi:10.1016/j.cbpa.2022.111204.
3. Nayak, S.; Batalov, S.; Jegla, T.; Zmasek, C. Evolution of the Human Ion Channel Set. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2009**, *12*, 2–23, doi:10.2174/138620709787047957.
4. Amin, A.S.; Tan, H.L.; Wilde, A.A.M. Cardiac Ion Channels in Health and Disease. *Hear. Rhythm* **2010**, *7*, 117–126, doi:10.1016/j.hrthm.2009.08.005.
5. Carmeliet, E. Cardiac Transmembrane Potentials and Metabolism. *Circ. Res.* **1978**, *42*, 577–587, doi:10.1161/01.RES.42.5.577.
6. Verkerk, A.O.; Amin, A.S.; Remme, C.A. Disease Modifiers of Inherited SCN5A Channelopathy. *Front. Cardiovasc. Med.* **2018**, *5*, doi:10.3389/fcvm.2018.00137.
7. Lamah, J.; Cone, R.I.; Maeda, S.; Philip, M.; Corbani, M.; Nádásdi, L.; Ramachandran, J.; Smith, G.M.; Sadée, W. Structure and Function of G Protein Coupled Receptors. *Pharm. Res. An Off. J. Am. Assoc. Pharm. Sci.* **1990**, *7*, 1213–1221, doi:10.1023/A:1015969301407.
8. Jenkinson, D.H. Classification and Properties of Peripheral Adrenergic Receptors. *Br. Med. Bull.* **1973**, *29*, 142–147, doi:10.1093/oxfordjournals.bmb.a070984.
9. Yang, J.; Liu, Y.; Fan, X.; Li, Z.; Cheng, Y. A Pathway and Network Review on Beta-Adrenoceptor Signaling and Beta Blockers in Cardiac Remodeling. *Heart Fail. Rev.* **2014**, *19*, 799–814, doi:10.1007/s10741-013-9417-4.
10. Marx, S.O.; Marks, A.R. Regulation of the Ryanodine Receptor in Heart Failure. *Basic Res. Cardiol. Suppl.* **2002**, *97*, 1–1, doi:10.1007/s003950200029.
11. Wallukat, G. The β -Adrenergic Receptors. *Herz* **2002**, *27*, 683–690, doi:10.1007/s00059-002-2434-z.
12. van der Heyden, M.A.G.; Wijnhoven, T.J.M.; Opthof, T. Molecular Aspects of Adrenergic Modulation of the Transient Outward Current. *Cardiovasc. Res.* **2006**, *71*,

- 430–442, doi:10.1016/j.cardiores.2006.04.012.
13. Koumi, S.; Wasserstrom, J.A.; Ten Eick, R.E. Beta-adrenergic and Cholinergic Modulation of Inward Rectifier K⁺ Channel Function and Phosphorylation in Guinea-pig Ventricle. *J. Physiol.* **1995**, *486*, 661–678, doi:10.1113/jphysiol.1995.sp020842.
 14. Tromba, C.; Cohen, I.S. A Novel Action of Isoproterenol to Inactivate a Cardiac K⁺ Current Is Not Blocked by Beta and Alpha Adrenergic Blockers. *Biophys. J.* **1990**, *58*, 791–795, doi:10.1016/S0006-3495(90)82422-X.
 15. Reilly, L.; Alvarado, F.J.; Lang, D.; Abozeid, S.; Van Ert, H.; Spellman, C.; Warden, J.; Makielski, J.C.; Glukhov, A. V.; Eckhardt, L.L. Genetic Loss of IK1 Causes Adrenergic-Induced Phase 3 Early Afterdepolarizations and Polymorphic and Bidirectional Ventricular Tachycardia. *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.* **2020**, *13*, E008638, doi:10.1161/CIRCEP.120.008638.
 16. Fakler, B.; Brändle, U.; Glowatzki, E.; Zenner, H.P.; Ruppersberg, J.P. Kir2.1 Inward Rectifier K⁺ Channels Are Regulated Independently by Protein Kinases and ATP Hydrolysis. *Neuron* **1994**, *13*, 1413–1420, doi:10.1016/0896-6273(94)90426-X.
 17. Kalscheur, M.M.; Vaidyanathan, R.; Orland, K.M.; Abozeid, S.; Fabry, N.; Maginot, K.R.; January, C.T.; Makielski, J.C.; Eckhardt, L.L. KCNJ2 Mutation Causes an Adrenergic-Dependent Rectification Abnormality with Calcium Sensitivity and Ventricular Arrhythmia. *Heart Rhythm* **2014**, *11*, 885–894, doi:10.1016/j.hrthm.2014.02.015.
 18. Makielski, J.C.; Vega, A.L.; Tester, D.J.; Ackerman, M.J. Protein Kinase A-Dependent Biophysical Phenotype for V227F-KCNJ2 Mutation in Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.* **2009**, *2*, 540–547, doi:10.1161/CIRCEP.109.872309.
 19. Wischmeyer, E.; Karschin, A. Receptor Stimulation Causes Slow Inhibition of IRK1 Inwardly Rectifying K⁺ Channels by Direct Protein Kinase A-Mediated Phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1996**, *93*, 5819–5823, doi:10.1073/pnas.93.12.5819.
 20. Karle, C.A.; Zitron, E.; Zhang, W.; Kathöfer, S.; Schoels, W.; Kiehn, J. Rapid Component IKr of the Guinea-Pig Cardiac Delayed Rectifier K⁺ Current Is Inhibited by B1-Adrenoreceptor Activation, via CAMP/Protein Kinase A-Dependent Pathways. *Cardiovasc. Res.* **2002**, *53*, 355–362, doi:10.1016/S0008-6363(01)00509-0.
 21. Fauconnier, J.; Lacampagne, A.; Rauzier, J.M.; Vassort, G.; Richard, S. Ca²⁺-Dependent Reduction of IK1 in Rat Ventricular Cells: A Novel Paradigm for

- Arrhythmia in Heart Failure? *Cardiovasc. Res.* **2005**, *68*, 204–212, doi:10.1016/j.cardiores.2005.05.024.
22. Scherer, D.; Kiesecker, C.; Kulzer, M.; Günth, M.; Scholz, E.P.; Kathöfer, S.; Thomas, D.; Maurer, M.; Kreuzer, J.; Bauer, A.; et al. Activation of Inwardly Rectifying Kir2.x Potassium Channels by B3-Adrenoceptors Is Mediated via Different Signaling Pathways with a Predominant Role of PKC for Kir2.1 and of PKA for Kir2.2. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2007**, *375*, 311–322, doi:10.1007/s00210-007-0167-5.
 23. Harmati, G.; Bányász, T.; Bárándi, L.; Szentandrassy, N.; Horváth, B.; Szabó, G.; Szentmiklósi, J.A.; Szénási, G.; Nánási, P.P.; Magyar, J. Effects of β -Adrenoceptor Stimulation on Delayed Rectifier K⁺ Currents in Canine Ventricular Cardiomyocytes. *Br. J. Pharmacol.* **2011**, *162*, 890–896, doi:10.1111/j.1476-5381.2010.01092.x.
 24. Heath, B.M.; Terrar, D.A. Protein Kinase C Enhances the Rapidly Activating Delayed Rectifier Potassium Current, I(Kr), through a Reduction in C-Type Inactivation in Guinea-Pig Ventricular Myocytes. *J. Physiol.* **2000**, *522*, 391–402, doi:10.1111/j.1469-7793.2000.t01-2-00391.x.
 25. Thomas, D.; Zhang, W.; Karle, C.A.; Kathöfer, S.; Schöls, W.; Kübler, W.; Kiehn, J. Deletion of Protein Kinase A Phosphorylation Sites in the HERG Potassium Channel Inhibits Activation Shift by Protein Kinase A. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 27457–27462, doi:10.1074/jbc.274.39.27457.
 26. Banyasz, T.; Jian, Z.; Horvath, B.; Khabbaz, S.; Izu, L.T.; Chen-Izu, Y. Beta-Adrenergic Stimulation Reverses the I Kr–I Ks Dominant Pattern during Cardiac Action Potential. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* **2014**, *466*, 2067–2076, doi:10.1007/s00424-014-1465-7.
 27. Hegyi, B.; Bossuyt, J.; Ginsburg, K.S.; Mendoza, L.M.; Talken, L.; Ferrier, W.T.; Pogwizd, S.M.; Izu, L.T.; Chen-Izu, Y.; Bers, D.M. Altered Repolarization Reserve in Failing Rabbit Ventricular Myocytes: Calcium and β -Adrenergic Effects on Delayed- and Inward-Rectifier Potassium Currents. *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.* **2018**, *11*, doi:10.1161/CIRCEP.117.005852.
 28. Hegyi, B.; Bányász, T.; Izu, L.T.; Belardinelli, L.; Bers, D.M.; Chen-Izu, Y. β -Adrenergic Regulation of Late Na⁺ Current during Cardiac Action Potential Is Mediated by Both PKA and CaMKII. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2018**, *123*, 168–179, doi:10.1016/j.yjmcc.2018.09.006.
 29. Braz, J.C.; Gregory, K.; Pathak, A.; Zhao, W.; Sahin, B.; Klevitsky, R.; Kimball, T.F.;

- Lorenz, J.N.; Nairn, A.C.; Liggett, S.B.; et al. PKC- α Regulates Cardiac Contractility and Propensity toward Heart Failure. *Nat. Med.* **2004**, *10*, 248–254, doi:10.1038/nm1000.
30. Erdbrügger, W.; Keffel, J.; Knocks, M.; Otto, T.; Philipp, T.; Michel, M.C. Protein Kinase C Isoenzymes in Rat and Human Cardiovascular Tissues. *Br. J. Pharmacol.* **1997**, *120*, 177–186, doi:10.1038/sj.bjp.0700877.
31. Rybin, V.O.; Steinberg, S.F. Protein Kinase C Isoform Expression and Regulation in the Developing Rat Heart. *Circ. Res.* **1994**, *74*, 299–309, doi:10.1161/01.RES.74.2.299.
32. Bos, J.L. Epac: A New CAMP Target and New Avenues in CAMP Research. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2003**, *4*, 733–738, doi:10.1038/nrm1197.
33. Rehmann, H.; Prakash, B.; Wolf, E.; Rueppel, A.; De Rooij, J.; Bos, J.L.; Wittinghofer, A. Structure and Regulation of the CAMP-Binding Domains of Epac2. *Nat. Struct. Biol.* **2003**, *10*, 26–32, doi:10.1038/nsb878.
34. Wang, H.; Oestreich, E.A.; Maekawa, N.; Bullard, T.A.; Vikstrom, K.L.; Dirksen, R.T.; Kelley, G.G.; Blaxall, B.C.; Smrcka, A. V. Phospholipase C ϵ Modulates β -Adrenergic Receptor-Dependent Cardiac Contraction and Inhibits Cardiac Hypertrophy. *Circ. Res.* **2005**, *97*, 1305–1313, doi:10.1161/01.RES.0000196578.15385.bb.
35. Pereira, L.; Métrich, M.; Fernández-velasco, M.; Lucas, A.; Leroy, J.; Perrier, R.; Morel, E.; Fischmeister, R.; Richard, S.; Bénitah, J.P.; et al. The CAMP Binding Protein Epac Modulates Ca²⁺ Sparks by a Ca²⁺/Calmodulin Kinase Signalling Pathway in Rat Cardiac Myocytes. *J. Physiol.* **2007**, *583*, 685–694, doi:10.1113/jphysiol.2007.133066.
36. Grimm, M.; Brown, J.H. β -Adrenergic Receptor Signaling in the Heart: Role of CaMKII. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2010**, *48*, 322–330, doi:10.1016/j.yjmcc.2009.10.016.
37. Sipido, K.R.; Callewaert, G.; Carmeliet, E. Inhibition and Rapid Recovery of Ca²⁺ Current during Ca²⁺ Release from Sarcoplasmic Reticulum in Guinea Pig Ventricular Myocytes. *Circ. Res.* **1995**, *76*, 102–109, doi:10.1161/01.RES.76.1.102.
38. Wingo, T.L.; Shah, V.N.; Anderson, M.E.; Lybrand, T.P.; Chazin, W.J.; Balser, J.R. An EF-Hand in the Sodium Channel Couples Intracellular Calcium to Cardiac Excitability. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 219–225, doi:10.1038/nsmb737.
39. Tan, H.L.; Kupersmidt, S.; Zhang, R.; Stepanovic, S.; Roden, D.M.; Wilde, A.A.M.; Anderson, M.E.; Balser, J.R. A Calcium Sensor in the Sodium Channel Modulates

- Cardiac Excitability. *Nature* **2002**, *415*, 442–447, doi:10.1038/415442a.
40. Kim, J.; Ghosh, S.; Liu, H.; Tateyama, M.; Kass, R.S.; Pitt, G.S. Calmodulin Mediates Ca²⁺ Sensitivity of Sodium Channels. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 45004–45012, doi:10.1074/jbc.M407286200.
 41. Bers, D.M.; Grandi, E. Calcium/Calmodulin-Dependent Kinase II Regulation of Cardiac Ion Channels. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **2009**, *54*, 180–187, doi:10.1097/FJC.0b013e3181a25078.
 42. ZHANG, T. Role of Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II in Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. *Cardiovasc. Res.* **2004**, *63*, 476–486, doi:10.1016/j.cardiores.2004.04.026.
 43. ANDERSON, M. Calmodulin Kinase Signaling in Heart: An Intriguing Candidate Target for Therapy of Myocardial Dysfunction and Arrhythmias. *Pharmacol. Ther.* **2005**, *106*, 39–55, doi:10.1016/j.pharmthera.2004.11.002.
 44. Grandi, E.; Herren, A.W. CaMKII-Dependent Regulation of Cardiac Na⁺ Homeostasis. *Front. Pharmacol.* **2014**, *5*, doi:10.3389/fphar.2014.00041.
 45. Shugg, T.; Johnson, D.E.; Shao, M.; Lai, X.; Witzmann, F.; Cummins, T.R.; Rubart-Von-der Lohe, M.; Hudmon, A.; Overholser, B.R. Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II Regulation of IKs during Sustained β -Adrenergic Receptor Stimulation. *Heart Rhythm* **2018**, *15*, 895–904, doi:10.1016/j.hrthm.2018.01.024.
 46. Wagner, S.; Hacker, E.; Grandi, E.; Weber, S.L.; Dybkova, N.; Sossalla, S.; Sowa, T.; Fabritz, L.; Kirchhof, P.; Bers, D.M.; et al. Ca/Calmodulin Kinase II Differentially Modulates Potassium Currents. *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.* **2009**, *2*, 285–294, doi:10.1161/CIRCEP.108.842799.
 47. Qu, Z.; Weiss, J.N. Mechanisms of Ventricular Arrhythmias: From Molecular Fluctuations to Electrical Turbulence. *Annu. Rev. Physiol.* **2015**, *77*, 29–55, doi:10.1146/annurev-physiol-021014-071622.
 48. Gellens, M.E.; George, A.L.; Chen, L.; Chahine, M.; Horn, R.; Barchi, R.L.; Kallen, R.G. Primary Structure and Functional Expression of the Human Cardiac Tetrodotoxin-Insensitive Voltage-Dependent Sodium Channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1992**, *89*, 554–558, doi:10.1073/pnas.89.2.554.
 49. Clapham, D.E.; Julius, D.; Montell, C.; Schultz, G. International Union of Pharmacology. XLIX. Nomenclature and Structure-Function Relationships of Transient Receptor Potential Channels. *Pharmacol. Rev.* **2005**, *57*, 427–450, doi:10.1124/pr.57.4.6.

50. Maier, S.K.G.; Westenbroek, R.E.; Schenkman, K.A.; Feigl, E.O.; Scheuer, T.; Catterall, W.A. An Unexpected Role for Brain-Type Sodium Channels in Coupling of Cell Surface Depolarization to Contraction in the Heart. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 4073–4078, doi:10.1073/pnas.261705699.
51. Haufe, V.; Cordeiro, J.M.; Zimmer, T.; Wu, Y.S.; Schiccitano, S.; Benndorf, K.; Dumaine, R. Contribution of Neuronal Sodium Channels to the Cardiac Fast Sodium Current I_{Na} Is Greater in Dog Heart Purkinje Fibers than in Ventricles. *Cardiovasc. Res.* **2005**, *65*, 117–127, doi:10.1016/j.cardiores.2004.08.017.
52. Valdivia, C.R.; Chu, W.W.; Pu, J.; Foell, J.D.; Haworth, R.A.; Wolff, M.R.; Kamp, T.J.; Makielski, J.C. Increased Late Sodium Current in Myocytes from a Canine Heart Failure Model and from Failing Human Heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2005**, *38*, 475–483, doi:10.1016/j.yjmcc.2004.12.012.
53. Biet, M.; Barajas-Martínez, H.; Ton, A.T.; Delabre, J.F.; Morin, N.; Dumaine, R. About Half of the Late Sodium Current in Cardiac Myocytes from Dog Ventricle Is Due to Non-Cardiac-Type Na^+ Channels. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2012**, *53*, 593–598, doi:10.1016/j.yjmcc.2012.06.012.
54. Yang, T.; Atack, T.C.; Stroud, D.M.; Zhang, W.; Hall, L.; Roden, D.M. Blocking $Scn10a$ Channels in Heart Reduces Late Sodium Current and Is Antiarrhythmic. *Circ. Res.* **2012**, *111*, 322–332, doi:10.1161/CIRCRESAHA.112.265173.
55. Malhotra, J.D.; Chen, C.; Rivolta, I.; Abriel, H.; Malhotra, R.; Mattei, L.N.; Brosius, F.C.; Kass, R.S.; Isom, L.L. Characterization of Sodium Channel α - and β -Subunits in Rat and Mouse Cardiac Myocytes. *Circulation* **2001**, *103*, 1303–1310, doi:10.1161/01.CIR.103.9.1303.
56. Scanley, B.E.; Hanck, D.A.; Chay, T.; Fozzard, H.A. Kinetic Analysis of Single Sodium Channels from Canine Cardiac Purkinje Cells. *J. Gen. Physiol.* **1990**, *95*, doi:10.1085/jgp.95.3.411.
57. Mitsuiye, T.; Noma, A. Inactivation of Cardiac Na^+ Channel Simply through Open States as Revealed by Single-Channel Analysis in Guinea Pig Ventricular Myocytes. *Jpn. J. Physiol.* **2002**, *52*, 457–469, doi:10.2170/jjphysiol.52.457.
58. Taylor, C.P. Na^+ Currents That Fail to Inactivate. *Trends Neurosci.* **1993**, *16*, 455–460, doi:10.1016/0166-2236(93)90077-Y.
59. Detta, N.; Frisso, G.; Salvatore, F. The Multi-Faceted Aspects of the Complex Cardiac Nav1.5 Protein in Membrane Function and Pathophysiology. *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* **2015**, *1854*, 1502–1509, doi:10.1016/j.bbapap.2015.07.009.

60. Zaza, A.; Rocchetti, M. The Late Na⁺ Current - Origin and Pathophysiological Relevance. *Cardiovasc. Drugs Ther.* **2013**, *27*, 61–68, doi:10.1007/s10557-012-6430-0.
61. Maltsev, V.A.; Sabbah, H.N.; Higgins, R.S.D.; Silverman, N.; Lesch, M.; Undrovinas, A.I. Novel, Ultraslow Inactivating Sodium Current in Human Ventricular Cardiomyocytes. *Circulation* **1998**, *98*, 2545–2552, doi:10.1161/01.CIR.98.23.2545.
62. Wang, D.W.; Viswanathan, P.C.; Balser, J.R.; George, A.L.; Benson, D.W. Clinical, Genetic, and Biophysical Characterization of SCN5A Mutations Associated With Atrioventricular Conduction Block. *Circulation* **2002**, *105*, 341–346, doi:10.1161/hc0302.102592.
63. Liu, H.; Sun, H.-Y.; Lau, C.-P.; Li, G.-R. Regulation of Voltage-Gated Cardiac Sodium Current by Epidermal Growth Factor Receptor Kinase in Guinea Pig Ventricular Myocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2007**, *42*, 760–768, doi:10.1016/j.yjmcc.2006.10.013.
64. Amin, A.S.; Asghari-Roodsari, A.; Tan, H.L. Cardiac Sodium Channelopathies. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* **2010**, *460*, 223–237, doi:10.1007/s00424-009-0761-0.
65. MALTSEV, V.; UNDROVINAS, A. A Multi-Modal Composition of the Late Na⁺ Current in Human Ventricular Cardiomyocytes. *Cardiovasc. Res.* **2006**, *69*, 116–127, doi:10.1016/j.cardiores.2005.08.015.
66. Clancy, C.E.; Tateyama, M.; Liu, H.; Wehrens, X.H.T.; Kass, R.S. Non-Equilibrium Gating in Cardiac Na⁺ Channels: An Original Mechanism of Arrhythmia. *Circulation* **2003**, *107*, 2233–2237, doi:10.1161/01.CIR.0000069273.51375.BD.
67. Magyar, J.; Kiper, C.E.; Dumaine, R.; Burgess, D.E.; Bányász, T.; Satin, J. Divergent Action Potential Morphologies Reveal Nonequilibrium Properties of Human Cardiac Na Channels. *Cardiovasc. Res.* **2004**, *64*, 477–487, doi:10.1016/j.cardiores.2004.07.014.
68. Horvath, B.; Banyasz, T.; Jian, Z.; Hegyi, B.; Kistamas, K.; Nanasi, P.P.; Izu, L.T.; Chen-Izu, Y. Dynamics of the Late Na⁺ Current during Cardiac Action Potential and Its Contribution to Afterdepolarizations. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2013**, *64*, 59–68, doi:10.1016/j.yjmcc.2013.08.010.
69. Horváth, B.; Magyar, J.; Szentandrassy, N.; Birinyi, P.; Nánási, P.P.; Bányász, T. Contribution of IKs to Ventricular Repolarization in Canine Myocytes. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* **2006**, *452*, 698–706, doi:10.1007/s00424-006-0077-2.
70. Coraboeuf, E.; Deroubaix, E.; Coulombe, A. Effect of Tetrodotoxin on Action Potentials of the Conducting System in the Dog Heart. *Am. J. Physiol. - Hear. Circ.*

- Physiol.* **1979**, *5*, doi:10.1152/ajpheart.1979.236.4.h561.
71. Kiyosue, T.; Arita, M. Late Sodium Current and Its Contribution to Action Potential Configuration in Guinea Pig Ventricular Myocytes. *Circ. Res.* **1989**, *64*, 389–397, doi:10.1161/01.RES.64.2.389.
 72. Horváth, B.; Hézsó, T.; Szentandrassy, N.; Kistamás, K.; Árpádfy-Lovas, T.; Varga, R.; Gazdag, P.; Veress, R.; Dienes, C.; Baranyai, D.; et al. Late Sodium Current in Human, Canine and Guinea Pig Ventricular Myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2020**, *139*, 14–23, doi:10.1016/j.yjmcc.2019.12.015.
 73. Maier, S.K.G.; Westenbroek, R.E.; Yamanushi, T.T.; Dobrzynski, H.; Boyett, M.R.; Catterall, W.A.; Scheuer, T. An Unexpected Requirement for Brain-Type Sodium Channels for Control of Heart Rate in the Mouse Sinoatrial Node. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 3507–3512, doi:10.1073/pnas.2627986100.
 74. Lei, M.; Jones, S.A.; Liu, J.; Lancaster, M.K.; Fung, S.S. -M.; Dobrzynski, H.; Camelliti, P.; Maier, S.K.G.; Noble, D.; Boyett, M.R. Requirement of Neuronal- and Cardiac-type Sodium Channels for Murine Sinoatrial Node Pacemaking. *J. Physiol.* **2004**, *559*, 835–848, doi:10.1113/jphysiol.2004.068643.
 75. Huang, X.; Du, Y.; Yang, P.; Lin, S.; Xi, Y.; Yang, Z.; Ma, A. Age-Dependent Alterations of Voltage-Gated Na⁺ Channel Isoforms in Rat Sinoatrial Node. *Mech. Ageing Dev.* **2015**, *152*, 80–90, doi:10.1016/j.mad.2015.10.003.
 76. Burashnikov, A.; Antzelevitch, C. Role of Late Sodium Channel Current Block in the Management of Atrial Fibrillation. *Cardiovasc. Drugs Ther.* **2013**, *27*, 79–89, doi:10.1007/s10557-012-6421-1.
 77. Luo, A.; Ma, J.; Song, Y.; Qian, C.; Wu, Y.; Zhang, P.; Wang, L.; Fu, C.; Cao, Z.; Shryock, J.C. Larger Late Sodium Current Density as Well as Greater Sensitivities to ATX II and Ranolazine in Rabbit Left Atrial than Left Ventricular Myocytes. *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.* **2014**, *306*, 455–461, doi:10.1152/ajpheart.00727.2013.
 78. Li, G.-R.; Lau, C.-P.; Shrier, A. Heterogeneity of Sodium Current in Atrial vs Epicardial Ventricular Myocytes of Adult Guinea Pig Hearts. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2002**, *34*, 1185–1194, doi:10.1006/jmcc.2002.2053.
 79. Burashnikov, A.; Di Diego, J.M.; Zygmunt, A.C.; Belardinelli, L.; Antzelevitch, C. Atrium-Selective Sodium Channel Block as a Strategy for Suppression of Atrial Fibrillation: Differences in Sodium Channel Inactivation between Atria and Ventricles and the Role of Ranolazine. *Circulation* **2007**, *116*, 1449–1457, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.704890.

80. Burashnikov, A.; Antzelevitch, C. Atrial-Selective Sodium Channel Blockers: Do They Exist? *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **2008**, *52*, 121–128, doi:10.1097/FJC.0b013e31817618eb.
81. Linz, K.W.; Meyer, R. Control of L-type Calcium Current during the Action Potential of Guinea-pig Ventricular Myocytes. *J. Physiol.* **1998**, *513*, 425–442, doi:10.1111/j.1469-7793.1998.425bb.x.
82. Linz, K.W.; Meyer, R. Profile and Kinetics of L-Type Calcium Current during the Cardiac Ventricular Action Potential Compared in Guinea-Pigs, Rats and Rabbits. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* **2000**, *439*, 588–599, doi:10.1007/s004240050982.
83. Bányász, T.; Fülöp, L.; Magyar, J.; Szentandrassy, N.; Varró, A.; Nánási, P.P. Endocardial versus Epicardial Differences in L-Type Calcium Current in Canine Ventricular Myocytes Studied by Action Potential Voltage Clamp. *Cardiovasc. Res.* **2003**, *58*, 66–75, doi:10.1016/S0008-6363(02)00853-2.
84. Fülöp, L.; Bányász, T.; Magyar, J.; Szentandrassy, N.; Varró, A.; Nánási, P.P. Reopening of L-type Calcium Channels in Human Ventricular Myocytes during Applied Epicardial Action Potentials. *Acta Physiol. Scand.* **2004**, *180*, 39–47, doi:10.1046/j.0001-6772.2003.01223.x.
85. Banyasz, T.; Horvath, B.; Jian, Z.; Izu, L.T.; Chen-Izu, Y. Profile of L-Type Ca²⁺ Current and Na⁺/Ca²⁺ Exchange Current during Cardiac Action Potential in Ventricular Myocytes. *Hear. Rhythm* **2012**, *9*, 134–142, doi:10.1016/j.hrthm.2011.08.029.
86. Horváth, B.; Hézső, T.; Kiss, D.; Kistamás, K.; Magyar, J.; Nánási, P.P.; Bányász, T. Late Sodium Current Inhibitors as Potential Antiarrhythmic Agents. *Front. Pharmacol.* **2020**, *11*, doi:10.3389/fphar.2020.00413.
87. Bányász, T.; Horváth, B.; Virág, L.; Bárándi, L.; Szentandrassy, N.; Harmati, G.; Magyar, J.; Marangoni, S.; Zaza, A.; Varró, A.; et al. Reverse Rate Dependency Is an Intrinsic Property of Canine Cardiac Preparations. *Cardiovasc. Res.* **2009**, *84*, 237–244, doi:10.1093/cvr/cvp213.
88. Nagatomo, T. Rate-Dependent QT Shortening Mechanism for the LQT3 ΔKPQ Mutant. *Cardiovasc. Res.* **2002**, *54*, 624–629, doi:10.1016/S0008-6363(02)00265-1.
89. Wu, L.; Ma, J.; Li, H.; Wang, C.; Grandi, E.; Zhang, P.; Luo, A.; Bers, D.M.; Shryock, J.C.; Belardinelli, L. Late Sodium Current Contributes to the Reverse Rate-Dependent Effect of I_{Kr} Inhibition on Ventricular Repolarization. *Circulation* **2011**, *123*, 1713–1720, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.000661.

90. Despa, S.; Bers, D.M. Na⁺ Transport in the Normal and Failing Heart — Remember the Balance. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2013**, *61*, 2–10, doi:10.1016/j.yjmcc.2013.04.011.
91. Cheung, J.Y.; Zhang, X.; Song, J.; Gao, E.; Rabinowitz, J.E.; Chan, T.O.; Wang, J. Phospholemman: A Novel Cardiac Stress Protein. *Clin. Transl. Sci.* **2010**, *3*, 189–196, doi:10.1111/j.1752-8062.2010.00213.x.
92. Carmeliet, E. Voltage- and Time-Dependent Block of the Delayed K⁺ Current in Cardiac Myocytes by Dofetilide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1992**, *262*, 809–817.
93. Gintant, G.A. Regional Differences in IK Density in Canine Left Ventricle: Role of IK_s in Electrical Heterogeneity. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* **1995**, *268*, H604–H613, doi:10.1152/ajpheart.1995.268.2.H604.
94. Liu, D.-W.; Antzelevitch, C. Characteristics of the Delayed Rectifier Current (I_{Kr} and I_{Ks}) in Canine Ventricular Epicardial, Midmyocardial, and Endocardial Myocytes. *Circ. Res.* **1995**, *76*, 351–365, doi:10.1161/01.RES.76.3.351.
95. Chinn, K. Two Delayed Rectifiers in Guinea Pig Ventricular Myocytes Distinguished by Tail Current Kinetics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1993**, *264*, 553–560.
96. Nattel, S.; Yue, L.; Wang, Z. Cardiac Ultrarapid Delayed Rectifiers. *Cell. Physiol. Biochem.* **1999**, *9*, 217–226, doi:10.1159/000016318.
97. Long, S.B.; Campbell, E.B.; MacKinnon, R. Voltage Sensor of Kv1.2: Structural Basis of Electromechanical Coupling. *Science (80-.)*. **2005**, *309*, 903–908, doi:10.1126/science.1116270.
98. Roden, D.M.; Balsler, J.R.; George Jr, A.L.; Anderson, M.E. Cardiac Ion Channels. *Annu. Rev. Physiol.* **2002**, *64*, 431–475, doi:10.1146/annurev.physiol.64.083101.145105.
99. Perissinotti, L.L.; De Biase, P.M.; Guo, J.; Yang, P.-C.; Lee, M.C.; Clancy, C.E.; Duff, H.J.; Noskov, S.Y. Determinants of Isoform-Specific Gating Kinetics of HERG1 Channel: Combined Experimental and Simulation Study. *Front. Physiol.* **2018**, *9*, doi:10.3389/fphys.2018.00207.
100. Li, G.-R.; Feng, J.; Yue, L.; Carrier, M.; Nattel, S. Evidence for Two Components of Delayed Rectifier K⁺ Current in Human Ventricular Myocytes. *Circ. Res.* **1996**, *78*, 689–696, doi:10.1161/01.RES.78.4.689.
101. Veldkamp, M.W. Is the Slowly Activating Component of the Delayed Rectifier Current, I(K_s), Absent from Undiseased Human Ventricular Myocardium? *Cardiovasc. Res.* **1998**, *40*, 433–435, doi:10.1016/S0008-6363(98)00206-5.
102. Veldkamp, M.W.; van Ginneken, A.C.G.; Opthof, T.; Bouman, L.N. Delayed Rectifier

- Channels in Human Ventricular Myocytes. *Circulation* **1995**, *92*, 3497–3504, doi:10.1161/01.CIR.92.12.3497.
103. Vereecke, J.; Carmeliet, E. The Effect of External PH on the Delayed Rectifying K⁺ Current in Cardiac Ventricular Myocytes. *Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol.* **2000**, *439*, 739–751, doi:10.1007/s004249900243.
 104. Jeck, C.D.; Boyden, P.A. Age-Related Appearance of Outward Currents May Contribute to Developmental Differences in Ventricular Repolarization. *Circ. Res.* **1992**, *71*, 1390–1403, doi:10.1161/01.RES.71.6.1390.
 105. Spector, P.S.; Curran, M.E.; Zou, A.; Keating, M.T.; Sanguinetti, M.C. Fast Inactivation Causes Rectification of the IKr Channel. *J. Gen. Physiol.* **1996**, *107*, 611–619, doi:10.1085/jgp.107.5.611.
 106. Varró, A.; Baczkó, I. Cardiac Ventricular Repolarization Reserve: A Principle for Understanding Drug-Related Proarrhythmic Risk. *Br. J. Pharmacol.* **2011**, *164*, 14–36, doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01367.x.
 107. Gintant, G.A. Two Components of Delayed Rectifier Current in Canine Atrium and Ventricle. *Circ. Res.* **1996**, *78*, 26–37, doi:10.1161/01.RES.78.1.26.
 108. Bányász, T.; Magyar, J.; Szentandrassy, N.; Horváth, B.; Birinyi, P.; Szentmiklósi, J.; Nánási, P.P. Action Potential Clamp Fingerprints of K⁺ Currents in Canine Cardiomyocytes: Their Role in Ventricular Repolarization. *Acta Physiol.* **2007**, *190*, 189–198, doi:10.1111/j.1748-1716.2007.01674.x.
 109. Sanguinetti, M.C.; Jurkiewicz, N.K. Role of External Ca²⁺ and K⁺ in Gating of Cardiac Delayed Rectifier K⁺ Currents. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* **1992**, *420*, 180–186, doi:10.1007/BF00374988.
 110. Yang, T.; Snyders, D.J.; Roden, D.M. Rapid Inactivation Determines the Rectification and [K⁺]_o Dependence of the Rapid Component of the Delayed Rectifier K⁺ Current in Cardiac Cells. *Circ. Res.* **1997**, *80*, 782–789, doi:10.1161/01.RES.80.6.782.
 111. Guo, J.; Massaeli, H.; Xu, J.; Jia, Z.; Wigle, J.T.; Mesaeli, N.; Zhang, S. Extracellular K⁺ Concentration Controls Cell Surface Density of IKr in Rabbit Hearts and of the HERG Channel in Human Cell Lines. *J. Clin. Invest.* **2009**, *119*, 2745–2757, doi:10.1172/JCI39027.
 112. Ho, W.K.; Earm, Y.E.; Lee, S.H.; Brown, H.F.; Noble, D. Voltage- and Time-dependent Block of Delayed Rectifier K⁺ Current in Rabbit Sino-atrial Node Cells by External Ca²⁺ and Mg²⁺. *J. Physiol.* **1996**, *494*, 727–742, doi:10.1113/jphysiol.1996.sp021528.

113. Ho, W.; Kim, I.; Lee, C.O.; Earm, Y.E. Voltage-dependent Blockade of HERG Channels Expressed in Xenopus Oocytes by External Ca²⁺ and Mg²⁺. *J. Physiol.* **1998**, *507*, 631–638, doi:10.1111/j.1469-7793.1998.631bs.x.
114. Sanguinetti, M.C.; Jurkiewicz, N.K. Lanthanum Blocks a Specific Component of IK and Screens Membrane Surface Change in Cardiac Cells. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* **1990**, *259*, H1881–H1889, doi:10.1152/ajpheart.1990.259.6.H1881.
115. Song, D.K.; Earm, Y.E.; Ho, W.K. Blockade of the Delayed Rectifier K⁺ Currents, I(Kr), in Rabbit Sinoatrial Node Cells by External Divalent Cations. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* **1999**, *438*, 147–153, doi:10.1007/s004240050892.
116. Sanguinetti, M.C.; Jurkiewicz, N.K. Two Components of Cardiac Delayed Rectifier K⁺ Current. Differential Sensitivity to Block by Class III Antiarrhythmic Agents. *J. Gen. Physiol.* **1990**, *96*, 195–215, doi:10.1085/jgp.96.1.195.
117. Spector, P.S.; Curran, M.E.; Keating, M.T.; Sanguinetti, M.C. Class III Antiarrhythmic Drugs Block HERG, a Human Cardiac Delayed Rectifier K⁺ Channel. *Circ. Res.* **1996**, *78*, 499–503, doi:10.1161/01.RES.78.3.499.
118. Hondeghem, L.M.; Snyders, D.J. Class III Antiarrhythmic Agents Have a Lot of Potential but a Long Way to Go. Reduced Effectiveness and Dangers of Reverse Use Dependence. *Circulation* **1990**, *81*, 686–690, doi:10.1161/01.CIR.81.2.686.
119. Mitcheson, J.S.; Chen, J.; Lin, M.; Culberson, C.; Sanguinetti, M.C. A Structural Basis for Drug-Induced Long QT Syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2000**, *97*, 12329–12333, doi:10.1073/pnas.210244497.
120. Kovács, Z.M.; Óvári, J.; Dienes, C.; Magyar, J.; Bányász, T.; Nánási, P.P.; Horváth, B.; Feher, A.; Varga, Z.; Szentandrassy, N. ABT-333 (Dasabuvir) Increases Action Potential Duration and Provokes Early Afterdepolarizations in Canine Left Ventricular Cells via Inhibition of IKr. *Pharmaceuticals* **2023**, *16*, 1–18, doi:10.3390/ph16040488.
121. Zaritsky, J.J.; Redell, J.B.; Tempel, B.L.; Schwarz, T.L. The Consequences of Disrupting Cardiac Inwardly Rectifying K⁺ Current (IK1) as Revealed by the Targeted Deletion of the Murine Kir2.1 and Kir2.2 Genes. *J. Physiol.* **2001**, *533*, 697–710, doi:10.1111/j.1469-7793.2001.t01-1-00697.x.
122. Matsuda, H.; Matsuura, H.; Noma, A. Triple-barrel Structure of Inwardly Rectifying K⁺ Channels Revealed by Cs⁺ and Rb⁺ Block in Guinea-pig Heart Cells. *J. Physiol.* **1989**, *413*, 139–157, doi:10.1113/jphysiol.1989.sp017646.
123. Matsuda, H. Open-state Substructure of Inwardly Rectifying Potassium Channels Revealed by Magnesium Block in Guinea-pig Heart Cells. *J. Physiol.* **1988**, *397*, 237–

- 258, doi:10.1113/jphysiol.1988.sp016998.
124. Choe, S. Ion Channel Structure: Potassium Channel Structures. *Nat. Rev. Neurosci.* **2002**, *3*, 115–121, doi:10.1038/nrn727.
 125. Payet, M.D.; Rousseau, E.; Sauvé, R.; Tester, M. Single-Channel Analysis of a Potassium Inward Rectifier in Myocytes of Newborn Rat Heart. *J. Membr. Biol.* **1985**, *86*, 79–88, doi:10.1007/BF01870774.
 126. Bertran, G.C.; Biagetti, M.O.; Valverde, E.R.; Quinteiro, R.A. Effects of Amiodarone and Desethylamiodarone on the Inward Rectifying Potassium Current (I(K₁)) in Rabbit Ventricular Myocytes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1998**, *31*, 914–920, doi:10.1097/00005344-199806000-00016.
 127. Matsuura, H.; Shattock, M.J. Effects of Oxidant Stress on Steady-State Background Currents in Isolated Ventricular Myocytes. *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.* **1991**, *261*, 1358–1365, doi:10.1152/ajpheart.1991.261.5.h1358.
 128. Ito, H.; Vereecke, J.; Carmeliet, E. Intracellular Protons Inhibit Inward Rectifier K⁺ Channel of Guinea-Pig Ventricular Cell Membrane. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* **1992**, *422*, 280–286, doi:10.1007/BF00376214.
 129. Sato, T.; Arita, M.; Kiyosue, T. Differential Mechanism of Block of Palmitoyl Lysophosphatidylcholine and of Palmitoylcarnitine on Inward Rectifier K⁺ Channels of Guinea-Pig Ventricular Myocytes. *Cardiovasc. Drugs Ther.* **1993**, *7*, 575–584, doi:10.1007/BF00877623.
 130. Vornanen, M. Basic Functional Properties of the Cardiac Muscle of the Common Shrew (*Sorex Araneus*) and Some Other Small Mammals. *J. Exp. Biol.* **1989**, *145*, 339–351, doi:10.1242/jeb.145.1.339.
 131. Vornanen, M. Maximum Heart Rate of Soricine Shrews: Correlation with Contractile Properties and Myosin Composition. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* **1992**, *262*, R842–R851, doi:10.1152/ajpregu.1992.262.5.R842.
 132. Goldbogen, J.A.; Cade, D.E.; Calambokidis, J.; Czapanskiy, M.F.; Fahlbusch, J.; Friedlaender, A.S.; Gough, W.T.; Kahane-Rapport, S.R.; Savoca, M.S.; Ponganis, K. V.; et al. Extreme Bradycardia and Tachycardia in the World’s Largest Animal. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2019**, *116*, 25329–25332, doi:10.1073/pnas.1914273116.
 133. Rosati, B.; Dong, M.; Cheng, L.; Liou, S.-R.; Yan, Q.; Park, J.Y.; Shiang, E.; Sanguinetti, M.; Wang, H.-S.; McKinnon, D. Evolution of Ventricular Myocyte Electrophysiology. *Physiol. Genomics* **2008**, *35*, 262–272, doi:10.1152/physiolgenomics.00159.2007.

134. Stecyk, J.A.W.; Paajanen, V.; Farrell, A.P.; Vornanen, M. Effect of Temperature and Prolonged Anoxia Exposure on Electrophysiological Properties of the Turtle (*Trachemys Scripta*) Heart. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* **2007**, *293*, R421–R437, doi:10.1152/ajpregu.00096.2007.
135. Li, N.; Kalyanasundaram, A.; Hansen, B.J.; Artiga, E.J.; Sharma, R.; Abudulwahed, S.H.; Helfrich, K.M.; Rozenberg, G.; Wu, P.-J.; Zakharkin, S.; et al. Impaired Neuronal Sodium Channels Cause Intranodal Conduction Failure and Reentrant Arrhythmias in Human Sinoatrial Node. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 512, doi:10.1038/s41467-019-14039-8.
136. Baruscotti, M.; Westenbroek, R.; Catterall, W.A.; DiFrancesco, D.; Robinson, R.B. The Newborn Rabbit Sino-atrial Node Expresses a Neuronal Type I-like Na⁺ Channel. *J. Physiol.* **1997**, *498*, 641–648, doi:10.1113/jphysiol.1997.sp021889.
137. Mishra, S.; Reznikov, V.; Maltsev, V.A.; Undrovinas, N.A.; Sabbah, H.N.; Undrovinas, A. Contribution of Sodium Channel Neuronal Isoform Na^v 1.1 to Late Sodium Current in Ventricular Myocytes from Failing Hearts. *J. Physiol.* **2015**, *593*, 1409–1427, doi:10.1113/jphysiol.2014.278259.
138. Maguy, A.; Le Bouter, S.; Comtois, P.; Chartier, D.; Villeneuve, L.; Wakili, R.; Nishida, K.; Nattel, S. Ion Channel Subunit Expression Changes in Cardiac Purkinje Fibers. *Circ. Res.* **2009**, *104*, 1113–1122, doi:10.1161/CIRCRESAHA.108.191809.
139. Vornanen, M.; Hassinen, M.; Haverinen, J. Tetrodotoxin Sensitivity of the Vertebrate Cardiac Na⁺ Current. *Mar. Drugs* **2011**, *9*, 2409–2422, doi:10.3390/md9112409.
140. Holland, L.Z.; Ocampo Daza, D. A New Look at an Old Question: When Did the Second Whole Genome Duplication Occur in Vertebrate Evolution? *Genome Biol.* **2018**, *19*, 2–5, doi:10.1186/s13059-018-1592-0.
141. Galli, G.L.J.; Taylor, E.W.; Shiels, H.A. Calcium Flux in Turtle Ventricular Myocytes. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* **2006**, *291*, R1781–R1789, doi:10.1152/ajpregu.00421.2006.
142. Vornanen, M.; Shiels, H.A.; Farrell, A.P. Plasticity of Excitation–Contraction Coupling in Fish Cardiac Myocytes. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* **2002**, *132*, 827–846, doi:10.1016/S1095-6433(02)00051-X.
143. Abramochkin, D. V.; Matchkov, V.; Wang, T. A Characterization of the Electrophysiological Properties of the Cardiomyocytes from Ventricle, Atrium and Sinus Venosus of the Snake Heart. *J. Comp. Physiol. B* **2020**, *190*, 63–73, doi:10.1007/s00360-019-01253-5.

144. Abramochkin, D. V.; Borodinova, A.A.; Rosenshtraukh, L. V. Effects of Acetylcholinesterase Inhibitor Paraoxon Denote the Possibility of Non-Quantal Acetylcholine Release in Myocardium of Different Vertebrates. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* **2012**, *182*, 101–108, doi:10.1007/s00360-011-0602-2.
145. Abramochkin, D.; Kuzmin, V. Electrophysiological Differences in Cholinergic Signaling between the Hearts of Summer and Winter Frogs (*Rana Temporaria*). *J. Comp. Physiol. B* **2018**, *188*, 649–656, doi:10.1007/s00360-018-1147-4.
146. Giles, W.; Nakajima, T.; Ono, K.; Shibata, E.F. Modulation of the Delayed Rectifier K⁺ Current by Isoprenaline in Bull-frog Atrial Myocytes. *J. Physiol.* **1989**, *415*, 233–249, doi:10.1113/jphysiol.1989.sp017720.
147. Haverinen, J.; Vornanen, M. Responses of Action Potential and K⁺ Currents to Temperature Acclimation in Fish Hearts: Phylogeny or Thermal Preferences? *Physiol. Biochem. Zool.* **2009**, *82*, 468–482, doi:10.1086/590223.
148. Nemtsas, P.; Wettwer, E.; Christ, T.; Weidinger, G.; Ravens, U. Adult Zebrafish Heart as a Model for Human Heart? An Electrophysiological Study. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2010**, *48*, 161–171, doi:10.1016/j.yjmcc.2009.08.034.
149. Filatova, T.S.; Abramochkin, D. V. Inward Rectifier Currents IK1 and IKACH in Working Myocardium of Japanese Quail (*Coturnix Japonica*). *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* **2021**, *76*, 65–70, doi:10.3103/s0096392521020012.
150. Abramochkin, D. V.; Moiseenko, L.S.; Kuzmin, V.S. The Effect of Hydrogen Sulfide on Electrical Activity of Rat Atrial Myocardium. *Bull. Exp. Biol. Med.* **2009**, *147*, 683–686, doi:10.1007/s10517-009-0607-y.
151. Pustovit, K.B.; Kuzmin, V.S.; Abramochkin, D. V. Diadenosine Tetra- and Pentaphosphates Affect Contractility and Bioelectrical Activity in the Rat Heart via P2 Purinergic Receptors. *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2016**, *389*, 303–313, doi:10.1007/s00210-015-1199-x.
152. Yatani, A.; Kim, S.-J.; Kudej, R.K.; Wang, Q.; Depre, C.; Irie, K.; Kranias, E.G.; Vatner, S.F.; Vatner, D.E. Insights into Cardioprotection Obtained from Study of Cellular Ca²⁺ Handling in Myocardium of True Hibernating Mammals. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* **2004**, *286*, H2219–H2228, doi:10.1152/ajpheart.01096.2003.
153. Haverinen, J.; Vornanen, M. Temperature Acclimation Modifies Sinoatrial Pacemaker Mechanism of the Rainbow Trout Heart. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* **2007**, *292*, R1023–R1032, doi:10.1152/ajpregu.00432.2006.
154. Hassinen, M.; Haverinen, J.; Vornanen, M. Molecular Basis and Drug Sensitivity of the

- Delayed Rectifier (IKr) in the Fish Heart. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* **2015**, 176–177, 44–51, doi:10.1016/j.cbpc.2015.07.005.
155. Hull, C.M.; Genge, C.E.; Hobbs, Y.; Rayani, K.; Lin, E.; Gunawan, M.; Shafaattalab, S.; Tibbits, G.F.; Claydon, T.W. Investigating the Utility of Adult Zebrafish Ex Vivo Whole Hearts to Pharmacologically Screen HERG Channel Activator Compounds. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* **2019**, 317, R921–R931, doi:10.1152/ajpregu.00190.2019.
156. Scholz, E.P.; Niemer, N.; Hassel, D.; Zitron, E.; Bürgers, H.F.; Bloehs, R.; Seyler, C.; Scherer, D.; Thomas, D.; Kathöfer, S.; et al. Biophysical Properties of Zebrafish Ether-à-Go-Go Related Gene Potassium Channels. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2009**, 381, 159–164, doi:10.1016/j.bbrc.2009.02.042.
157. Boukens, B.J.D.; Kristensen, D.L.; Filogonio, R.; Carreira, L.B.T.; Sartori, M.R.; Abe, A.S.; Currie, S.; Joyce, W.; Conner, J.; Ophhof, T.; et al. The Electrocardiogram of Vertebrates: Evolutionary Changes from Ectothermy to Endothermy. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **2019**, 144, 16–29, doi:10.1016/j.pbiomolbio.2018.08.005.
158. Filatova, T.S.; Abramochkin, D. V.; Pavlova, N.S.; Pustovit, K.B.; Konovalova, O.P.; Kuzmin, V.S.; Dobrzynski, H. Repolarizing Potassium Currents in Working Myocardium of Japanese Quail: A Novel Translational Model for Cardiac Electrophysiology. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* **2021**, 255, 110919, doi:10.1016/j.cbpa.2021.110919.
159. Abramochkin, D. V.; Hassinen, M.; Vornanen, M. Transcripts of Kv7.1 and MinK Channels and Slow Delayed Rectifier K⁺ Current (IKs) Are Expressed in Zebrafish (*Danio Rerio*) Heart. *Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol.* **2018**, 470, 1753–1764, doi:10.1007/s00424-018-2193-1.
160. Kompella, S.N.; Brette, F.; Hancox, J.C.; Shiels, H.A. Phenanthrene Impacts Zebrafish Cardiomyocyte Excitability by Inhibiting IKr and Shortening Action Potential Duration. *J. Gen. Physiol.* **2021**, 153, doi:10.1085/jgp.202012733.
161. VARRÓ, A.; NÁNÁSI, P.P.; LATHROP, D.A. Potassium Currents in Isolated Human Atrial and Ventricular Cardiocytes. *Acta Physiol. Scand.* **1993**, 149, 133–142, doi:10.1111/j.1748-1716.1993.tb09605.x.
162. Wang, Z.; Yue, L.; White, M.; Pelletier, G.; Nattel, S. Differential Distribution of Inward Rectifier Potassium Channel Transcripts in Human Atrium Versus Ventricle. *Circulation* **1998**, 98, 2422–2428, doi:10.1161/01.CIR.98.22.2422.
163. Abramochkin, D. V.; Vornanen, M. Inhibition of the Cardiac ATP-Dependent

- Potassium Current by KB-R7943. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* **2014**, *175*, 38–45, doi:10.1016/j.cbpa.2014.05.005.
164. Hegyi, B.; Bossuyt, J.; Griffiths, L.G.; Shimkunas, R.; Coulibaly, Z.; Jian, Z.; Grimsrud, K.N.; Sondergaard, C.S.; Ginsburg, K.S.; Chiamvimonvat, N.; et al. Complex Electrophysiological Remodeling in Postinfarction Ischemic Heart Failure. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2018**, *115*, E3036–E3044, doi:10.1073/pnas.1718211115.
165. Belardinelli, L.; Liu, G.; Smith-Maxwell, C.; Wang, W.Q.; El-Bizri, N.; Hirakawa, R.; Karpinski, S.; Li, C.H.; Hu, L.; Li, X.J.; et al. A Novel, Potent, and Selective Inhibitor of Cardiac Late Sodium Current Suppresses Experimental Arrhythmias. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2013**, *344*, 23–32, doi:10.1124/jpet.112.198887.
166. Zygmunt, A.C.; Eddlestone, G.T.; Thomas, G.P.; Nesterenko, V. V.; Antzelevitch, C. Larger Late Sodium Conductance in M Cells Contributes to Electrical Heterogeneity in Canine Ventricle. *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.* **2001**, *281*, 689–697, doi:10.1152/ajpheart.2001.281.2.h689.
167. Murphy, L.; Renodin, D.; Antzelevitch, C.; di Diego, J.M.; Cordeiro, J.M. Extracellular Proton Depression of Peak and Late Na⁺ Current in the Canine Left Ventricle. *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.* **2011**, *301*, 936–944, doi:10.1152/ajpheart.00204.2011.
168. Kiss, D.; Horváth, B.; Hézsó, T.; Dienes, C.; Kovács, Z.; Topal, L.; Szentandrassy, N.; Almássy, J.; Prorok, J.; Virág, L.; et al. Late Na⁺ Current Is [Ca²⁺]_i-Dependent in Canine Ventricular Myocytes. *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 1–16, doi:10.3390/ph14111142.
169. Maltsev, V.A.; Silverman, N.; Sabbah, H.N.; Undrovinas, A.I. Chronic Heart Failure Slows Late Sodium Current in Human and Canine Ventricular Myocytes: Implications for Repolarization Variability. *Eur. J. Heart Fail.* **2007**, *9*, 219–227, doi:10.1016/j.ejheart.2006.08.007.
170. Ton, A.T.; Nguyen, W.; Sweat, K.; Miron, Y.; Hernandez, E.; Wong, T.; Geft, V.; Macias, A.; Espinoza, A.; Truong, K.; et al. Arrhythmogenic and Antiarrhythmic Actions of Late Sustained Sodium Current in the Adult Human Heart. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 1–16, doi:10.1038/s41598-021-91528-1.
171. Poulet, C.; Wettwer, E.; Grunnet, M.; Jespersen, T.; Fabritz, L.; Matschke, K.; Knaut, M.; Ravens, U. Late Sodium Current in Human Atrial Cardiomyocytes from Patients in Sinus Rhythm and Atrial Fibrillation. *PLoS One* **2015**, *10*, 1–19, doi:10.1371/journal.pone.0131432.

172. Ni, H.; Morotti, S.; Zhang, X.; Dobrev, D.; Grandi, E. Integrative Human Atrial Modelling Unravels Interactive Protein Kinase A and Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II Signalling as Key Determinants of Atrial Arrhythmogenesis. *Cardiovasc. Res.* **2023**, *119*, 2294–2311, doi:10.1093/cvr/cvad118.
173. Hamill, O.P.; Marty, A.; Neher, E.; Sakmann, B.; Sigworth, F.J. Improved Patch-Clamp Techniques for High-Resolution Current Recording from Cells and Cell-Free Membrane Patches. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* **1981**, *391*, 85–100, doi:10.1007/BF00656997.
174. Starzak, M.; Starzak, R. An Action Potential Clamp to Probe the Effectiveness of Space Clamp in Axons. *Biomed. Eng. IEEE Trans.* **1978**, *BME-25*, 201–204, doi:10.1109/TBME.1978.326249.
175. Doerr, T.; Denger, R.; Trautwein, W. Calcium Currents in Single SA Nodal Cells of the Rabbit Heart Studied with Action Potential Clamp. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* **1989**, *413*, 599–603, doi:10.1007/BF00581808.
176. Chen-Izu, Y.; T., L.; P., P.; Banyasz, T. From Action Potential-Clamp to “Onion-Peeling” Technique – Recording of Ionic Currents Under Physiological Conditions. *Patch Clamp Tech.* **2012**, doi:10.5772/35284.
177. Sala, L.; Hegyi, B.; Bartolucci, C.; Altomare, C.; Rocchetti, M.; Váczi, K.; Mostacciolo, G.; Szentandrassy, N.; Severi, S.; Nánási, P.P.; et al. Action Potential Contour Contributes to Species Differences in Repolarization Response to B-Adrenergic Stimulation. *Europace* **2018**, *20*, 1543–1552, doi:10.1093/europace/eux236.
178. Catterall, W.A. Neurotoxins That Act on Voltage-Sensitive Sodium Channels in Excitable Membranes. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1980**, *20*, 15–43, doi:10.1146/annurev.pa.20.040180.000311.
179. Monastyrnaya, M.M.; Kalina, R.S.; Kozlovskaya, E.P. The Sea Anemone Neurotoxins Modulating Sodium Channels: An Insight at Structure and Functional Activity after Four Decades of Investigation. *Toxins (Basel)*. **2023**, *15*, doi:10.3390/toxins15010008.
180. Bielen, F. V.; Glitsch, H.G.; Verdonck, F. Changes of the Subsarcolemmal Na⁺ Concentration in Internally Perfused Cardiac Cells. *BBA - Biomembr.* **1991**, *1065*, 269–271, doi:10.1016/0005-2736(91)90239-5.
181. Fujioka, Y.; Matsuoka, S.; Ban, T.; Noma, A. Interaction of the Na⁺-K⁺ Pump and Na⁺-Ca²⁺ Exchange via [Na⁺]_i in a Restricted Space of Guinea-Pig Ventricular Cells. *J. Physiol.* **1998**, *509*, 457–470, doi:10.1111/j.1469-7793.1998.457bn.x.

182. Wendt-Gallitelli, M.F.; Voigt, T.; Isenberg, G. Microheterogeneity of Subsarcolemmal Sodium Gradients. Electron Probe Microanalysis in Guinea-pig Ventricular Myocytes. *J. Physiol.* **1993**, *472*, 33–44, doi:10.1113/jphysiol.1993.sp019934.
183. Boyett, M.R.; Hart, G.; Levi, A.J.; Roberts, A. Effects of Repetitive Activity on Developed Force and Intracellular Sodium in Isolated Sheep and Dog Purkinje Fibres. *J. Physiol.* **1987**, *388*, 295–322, doi:10.1113/jphysiol.1987.sp016616.
184. Verdonck, F. Increased Na⁺ Concentration and Altered Na/K Pump Activity in Hypertrophied Canine Ventricular Cells. *Cardiovasc. Res.* **2003**, *57*, 1035–1043, doi:10.1016/S0008-6363(02)00734-4.
185. Ahmad, S.; Tirilomis, P.; Pabel, S.; Dybkova, N.; Hartmann, N.; Molina, C.E.; Tirilomis, T.; Kutschka, I.; Frey, N.; Maier, L.S.; et al. The Functional Consequences of Sodium Channel NaV1.8 in Human Left Ventricular Hypertrophy. *ESC Hear. Fail.* **2019**, *6*, 154–163, doi:10.1002/ehf2.12378.
186. Gutierrez, D.A.; Fernandez-Tenorio, M.; Ogrodnik, J.; Niggli, E. NO-Dependent CaMKII Activation during β -Adrenergic Stimulation of Cardiac Muscle. *Cardiovasc. Res.* **2013**, *100*, 392–401, doi:10.1093/cvr/cvt201.
187. Power, A.S.; Asamudo, E.U.; Worthington, L.P.I.; Alim, C.C.; Parackal, R.E.; Wallace, R.S.; Ebenebe, O. V.; Heller Brown, J.; Kohr, M.J.; Bers, D.M.; et al. Nitric Oxide Modulates Ca²⁺ Leak and Arrhythmias via S-Nitrosylation of CaMKII. *Circ. Res.* **2023**, *133*, 1040–1055, doi:10.1161/CIRCRESAHA.123.323571.
188. Gómez, R.; Caballero, R.; Barana, A.; Amorós, I.; Calvo, E.; López, J.A.; Klein, H.; Vaquero, M.; Osuna, L.; Atienza, F.; et al. Nitric Oxide Increases Cardiac Ik1 by Nitrosylation of Cysteine 76 of Kir2.1 Channels. *Circ. Res.* **2009**, *105*, 383–392, doi:10.1161/CIRCRESAHA.109.197558.
189. Oestreich, E.A.; Wang, H.; Malik, S.; Kaproth-Joslin, K.A.; Blaxall, B.C.; Kelley, G.G.; Dirksen, R.T.; Smrcka, A. V. Epac-Mediated Activation of Phospholipase C ϵ Plays a Critical Role in β -Adrenergic Receptor-Dependent Enhancement of Ca²⁺ Mobilization in Cardiac Myocytes. *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 5488–5495, doi:10.1074/jbc.M608495200.
190. Oestreich, E.A.; Malik, S.; Goonasekera, S.A.; Blaxall, B.C.; Kelley, G.G.; Dirksen, R.T.; Smrcka, A. V. Epac and Phospholipase C ϵ Regulate Ca²⁺ Release in the Heart by Activation of Protein Kinase C ϵ and Calcium-Calmodulin Kinase II. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 1514–1522, doi:10.1074/jbc.M806994200.
191. Pereira, L.; Bare, D.J.; Galice, S.; Shannon, T.R.; Bers, D.M. β -Adrenergic Induced SR

- Ca²⁺ + Leak Is Mediated by an Epac-NOS Pathway. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2017**, *108*, 8–16, doi:10.1016/j.yjmcc.2017.04.005.
192. Nibley, P.C.; Shenoy, S.K. B-Adrenergic Receptor Signaling Mediated By B-Arrestins and Its Potential Role in Heart Failure. *Curr. Opin. Physiol.* **2024**, *37*, 100723, doi:10.1016/j.cophys.2023.100723.
193. Nagy, N.; Acsai, K.; Kormos, A.; Sebok, Z.; Farkas, A.S.; Jost, N.; Nánási, P.P.; Papp, J.G.; Varró, A.; Tóth, A. I-Induced Augmentation of the Inward Rectifier Potassium Current (IK1) in Canine and Human Ventricular Myocardium. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* **2013**, *465*, 1621–1635, doi:10.1007/s00424-013-1309-x.
194. Hilgemann, D.W.; Feng, S.; Nasuhoglu, C. The Complex and Intriguing Lives of PIP₂ with Ion Channels and Transporters. *Sci. STKE* **2001**, *2001*, doi:10.1126/stke.2001.111.re19.
195. Hilgemann, D.W.; Ball, R. Regulation of Cardiac Na⁺,Ca²⁺ Exchange and K(ATP) Potassium Channels by PIP₂. *Science (80-.)*. **1996**, *273*, 956–959, doi:10.1126/science.273.5277.956.
196. Xu, J.X.; Si, M.; Zhang, H.R.; Chen, X.J.; Zhang, X.D.; Wang, C.; Du, X.N.; Zhang, H.L. Phosphoinositide Kinases Play Key Roles in Norepinephrine and Angiotensin II-Induced Increase in Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate and Modulation of Cardiac Function. *J. Biol. Chem.* **2014**, *289*, 6941–6948, doi:10.1074/jbc.M113.527952.
197. Penn, R.B.; Parent, J.L.; Pronin, A.N.; Panettieri, R.A.; Benovic, J.L. Pharmacological Inhibition of Protein Kinases in Intact Cells: Antagonism of Beta Adrenergic Receptor Ligand Binding by H-89 Reveals Limitations of Usefulness. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *288*, 428–437.
198. Volders, P.G.A.; Stengl, M.; Van Opstal, J.M.; Gerlach, U.; Spätjens, R.L.H.M.G.; Beekman, J.D.M.; Sipido, K.R.; Vos, M.A. Probing the Contribution of IKs to Canine Ventricular Repolarization: Key Role for β -Adrenergic Receptor Stimulation. *Circulation* **2003**, *107*, 2753–2760, doi:10.1161/01.cir.0000068344.54010.b3.
199. Stengl, M.; Volders, P.G.A.; Thomsen, M.B.; Spätjens, R.L.H.M.G.; Sipido, K.R.; Vos, M.A. Accumulation of Slowly Activating Delayed Rectifier Potassium Current (IKs) in Canine Ventricular Myocytes. *J. Physiol.* **2003**, *551*, 777–786, doi:10.1113/jphysiol.2003.044040.
200. Karle, C.A.; Zitron, E.; Zhang, W.; Wendt-Nordahl, G.; Kathöfer, S.; Thomas, D.; Gut, B.; Scholz, E.; Vahl, C.-F.; Katus, H.A.; et al. Human Cardiac Inwardly-Rectifying K⁺ Channel Kir 2.1b Is Inhibited by Direct Protein Kinase C-Dependent Regulation in

Human Isolated Cardiomyocytes and in an Expression System. *Circulation* **2002**, *106*, 1493–1499, doi:10.1161/01.CIR.0000029747.53262.5C.

10. Kulcsszavak

szívelektrofiziológia, $I_{Na,late}$, I_{Kr} , I_{K1} , szívizomsejt, APVC, CaMKII, PKA

11. Keywords

cardiac cellular electrophysiology, $I_{Na,late}$, I_{Kr} , I_{K1} , APVC, CaMKII, PKA

12. Köszönetnyilvánítás

Ez a dolgozat nem készülhetett volna el az engem támogató személyek nélkül. Első sorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Bányász Tamás Professor Úrnak, aki a PhD-képzés során folyamatosan támogatta munkámat.

Köszönettel tartozom a Szívelektrofiziológiai Laboratórium vezetőjének is, dr. Nánási Péter Professor Úrnak, aki megteremtette a hatékony munkavégzés feltételeit. Köszönetet mondok Magyar János Professor Úrnak is, akihez mindig fordulhattam tanácsokért, útmutatásért.

Köszönet illeti dr. Horváth Balázst és dr. Szentandrásy Norbertet is, akik bevezettek a szívelektrofiziológia és a tudományos munka világába. Szakmai segítségükre, baráti tanácsaikra mindig számíthattam.

Hálával tartozom a munkacsoportunk korábbi és jelenlegi PhD hallgatóinak, dr. Dienes Csabának, dr. Hézsó Tamásnak, dr. Kiss Dénesnek és dr. Óvári Józsefnek, akik tanácsokkal láttak el az évek során és munkájukkal segítették előrehaladásomat.

Emellett köszönet illeti dr. Dienes Beatrix, dr. Gönczi Mónika Tanár Nőket és dr. Szentesi Péter Tanár Urat, akikhez szintén bármikor fordulhattam amennyiben tanácsra, vagy segítségre, esetleg bátorításra volt szükségem.

Külön köszönettel tartozom dr. Csernoch László Professor Úrnak, aki a Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola vezetőjeként és az Élettani Intézet igazgatójaként lehetővé tette számomra a kutatások elvégzését.

Köszönöm az Élettani Intézet minden jelenlegi és korábbi munkatársának, hogy támogattak és segítettek munkámat.

Emellett köszönetet mondok azoknak, akik nélkül ez a dolgozat semmiképp sem jöhetett volna létre. Először is családomnak; édesanyámnak, édesapának, testvéremnek, és nagyszüleimnek, akiknek folyamatos támogatása, biztatása rengeteget segített a PhD-képzés ideje alatt. Végül, de nem utolsó sorban köszönet és hála illeti a képzés során megismert barátaimat is, dr. Csemer Andreát, dr. Magyar Zsuzsannát, Tillmann Brigittát, dr. Gere Áront, és dr. Szabó Lászlót, akikkel mind az Intézet falai között, mind azon túl rengeteg kellemes percet tudtam eltölteni.

13. Függelék

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/587/2024.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kovács Zsigmond Máté
Doktori Iskola: Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10079012

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kovács, Z. M.**, Horváth, B., Dienes, C., Óvári, J., Kiss, D. Z., Hézső, T., Szentandrassy, N., Magyar, J., Bányász, T., Nánási, P. P.: Beta-Adrenergic Activation of the Inward Rectifier K⁺ Current Is Mediated by the CaMKII Pathway in Canine Ventricular Cardiomyocytes.
Int. J. Mol. Sci. 25 (21), 1-14, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms252111609>
IF: 4.9 (2023)
2. Horváth, B., **Kovács, Z. M.**, Dienes, C., Óvári, J., Szentandrassy, N., Magyar, J., Bányász, T., Varró, A., Nánási, P. P.: Conductance Changes of Na⁺ Channels during the Late Na⁺ Current Flowing under Action Potential Voltage Clamp Conditions in Canine, Rabbit, and Guinea Pig Ventricular Myocytes.
Pharmaceuticals (Basel). 16 (4), 560, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ph16040560>
IF: 4.3

További közlemények

3. Horváth, B., **Kovács, Z. M.**, Dienes, C., Barta, Z., Óvári, J., Szentandrassy, N., Magyar, J., Bányász, T., Nánási, P. P.: Relationship between ion currents and membrane capacitance in canine ventricular myocytes.
Sci. Rep. 14 (1), 11241, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-024-61736-6>
IF: 3.8 (2023)
4. **Kovács, Z. M.**, Óvári, J., Dienes, C., Magyar, J., Bányász, T., Nánási, P. P., Horváth, B., Fehér, Á., Varga, Z., Szentandrassy, N.: ABT-333 (Dasabuvir) Increases Action Potential Duration and Provokes Early Afterdepolarizations in Canine Left Ventricular Cells via Inhibition of IKr.
Pharmaceuticals (Basel). 16 (4), 488, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ph16040488>
IF: 4.3





5. Naveed, M., Mohammed, A. S. A., Topal, L., **Kovács, Z. M.**, Dienes, C., Óvári, J., Szentandrassy, N., Magyar, J., Bányász, T., Prorok, J., Jost, N., Virág, L., Baczkó, I., Varró, A., Nánási, P. P., Horváth, B.: Selective Inhibition of Cardiac Late Na⁺ Current Is Based on Fast Offset Kinetics of the Inhibitor.
Biomedicines. 11 (9), 2383, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines11092383>
IF: 3.9
6. Dienes, C., **Kovács, Z. M.**, Óvári, J., Szentandrassy, N.: TRPM4-ioncsatornák vizsgálatának farmakológiai lehetőségei = Pharmacological possibilities of testing TRPM4 ion channels.
Cardiol. Hung. 53 (5), 446-450, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.26430/CHUNGARICA.2023.53.5.446>
7. Horváth, B., Szentandrassy, N., Dienes, C., **Kovács, Z. M.**, Nánási, P. P., Chen-Izu, Y., Izu, L. T., Bányász, T.: Exploring the Coordination of Cardiac Ion Channels With Action Potential Clamp Technique.
Front. Physiol. 13, 864002, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2022.864002>
IF: 4
8. Horváth, B., Szentandrassy, N., Almássy, J., Dienes, C., **Kovács, Z. M.**, Nánási, P. P., Bányász, T.: Late Sodium Current of the Heart: where Do We Stand and Where Are We Going?
Pharmaceuticals (Basel). 15 (2), 231, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ph15020231>
IF: 4.6
9. **Kovács, Z. M.**, Dienes, C., Hézső, T., Almássy, J., Magyar, J., Bányász, T., Nánási, P. P., Horváth, B., Szentandrassy, N.: Pharmacological Modulation and (Patho)Physiological Roles of TRPM4 Channel-Part 1: modulation of TRPM4.
Pharmaceuticals (Basel). 15 (1), 81, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ph15010081>
IF: 4.6
10. Dienes, C., **Kovács, Z. M.**, Hézső, T., Almássy, J., Magyar, J., Bányász, T., Nánási, P. P., Horváth, B., Szentandrassy, N.: Pharmacological Modulation and (Patho)Physiological Roles of TRPM4 Channel-Part 2: TRPM4 in Health and Disease.
Pharmaceuticals (Basel). 15 (1), 40, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ph15010040>
IF: 4.6





11. Dienes, C., Hézső, T., Kiss, D. Z., Baranyai, D., **Kovács, Z. M.**, Szabó, L., Magyar, J., Bányász, T., Nánási, P. P., Horváth, B., Gönczi, M., Szentandrassy, N.: Electrophysiological Effects of the Transient Receptor Potential Melastatin 4 Channel Inhibitor (4-Chloro-2-(2-chlorophenoxy)acetamido) Benzoic Acid (CBA) in Canine Left Ventricular Cardiomyocytes. *Int. J. Mol. Sci.* 22 (17), 9499, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22179499>
IF: 6.208
12. Horváth, B., Kiss, D. Z., Dienes, C., Hézső, T., **Kovács, Z. M.**, Szentandrassy, N., Almássy, J., Magyar, J., Bányász, T., Nánási, P. P.: Ion current profiles in canine ventricular myocytes obtained by the "onion peeling" technique. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 158, 153-162, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2021.05.011>
IF: 5.763
13. Kiss, D. Z., Horváth, B., Hézső, T., Dienes, C., **Kovács, Z. M.**, Topal, L., Szentandrassy, N., Almássy, J., Prorok, J., Virág, L., Bányász, T., Varró, A., Nánási, P. P., Magyar, J.: Late Na⁺ Current Is [Ca²⁺]_i-Dependent in Canine Ventricular Myocytes. *Pharmaceuticals (Basel)*. 14 (11), 1142, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ph14111142>
IF: 5.215

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 56,186

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
9,2**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2024.12.09.

