

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**Kardiális miozin-aktivátorok szisztolés és diasztolés
funkcióra kifejtett hatásainak vizsgálata *in vitro* és *in vivo***

Dr. Ráduly Arnold Péter

Témavezető: Dr. Borbély Attila



DEBRECENI EGYETEM

LAKI KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2023

Tartalomjegyzék

1	Bevezetés.....	6
2	Irodalmi áttekintés.....	7
2.1	A szívelégtelenség definíciója, epidemiológiája és csoportosítása	7
2.2	A szisztolés szívelégtelenség (HFrEF) patofiziológiája.....	8
2.3	A szisztolés szívelégtelenség (HFrEF) kezelése	9
2.4	Az előrehaladott stádiumú szívelégtelenség.....	10
2.5	A pozitív inotróp hatású szerek csoportosítása.....	12
2.5.1	Konvencionális/upstream mechanizmusú pozitív inotróp szerek	13
2.5.2	Centrális és downstream mechanizmus útján ható szerek.....	14
2.6	A miozin-aktivátorok.....	15
2.6.1	Hatásmechanizmus.....	15
2.6.2	Omecamtiv mecarbil	16
2.6.3	Danicamtiv	18
3	Célkitűzések	20
4	Anyagok és módszerek.....	21
4.1	<i>In vitro</i> kísérletek.....	21
4.1.1	A szívműködés izolálása	21
4.1.2	A Ca^{2+} -szint változásának és a szarkomerhossz rövidülésének a mérése	21
4.1.3	A kontraktilis paraméterek és Ca^{2+} -tranziensek jellemzése	22
4.2	<i>In vivo</i> kísérletek.....	23
4.2.1	Kísérleti elrendezés, állatmodell	23
4.2.2	Konvencionális echokardiográfia.....	23
4.2.3	Strain echokardiográfia	25
4.2.4	Elektrokardiográfia.....	26
4.3	Alkalmazott gyógyszerek és anyagok	26

4.4	Statisztikai elemzés.....	26
5	Eredmények.....	27
5.1	<i>In vitro</i> kísérletek - Omecamtiv mecarbil, EMD-53998 és Levosimendan.....	27
5.1.1	Az OM és EMD csökkentette, míg a Levosimendan nem befolyásolja a nyugalmi szarkomerhosszt	27
5.1.2	Az OM, EMD és Levo eltérő módon befolyásolja a bal kamrai szívizomsejtek kinetikai paramétereit kontrakció és relaxáció során	28
5.1.3	Az OM egyedi módon változtatja meg a Ca^{2+} - szarkomerhossz összefüggést .	31
5.1.4	A diasztolés és szisztolés szarkomerdinamika kölcsönhatásainak vizsgálata....	32
5.2	<i>In vivo</i> kísérletek - Danicamtiv.....	33
5.2.1	A danicamtiv csökkenti a végszisztolés átmérőt, de nem befolyásolja a végdiasztolés átmérőt	33
5.2.2	A danicamtiv javítja a bal kamrai kontraktilitást	34
5.2.3	A diasztolés és szisztolés időtartama megváltozik danicamtiv hatására	34
5.2.4	A kontrakció kinetikája jelentősen lassul, azonban a bal kamrai strain paraméterek javulnak a danicamtiv kezelést követően	35
5.2.5	A danicamtiv diasztolés diszfunkciót okoz	38
6	Megbeszélés	40
6.1	Az omecamtiv mecarbil pozitív inotróp és diasztolés diszfunkciót jósoló hatása <i>in vitro</i>	40
6.2	A danicamtiv szisztolés és diasztolés funkcióra kifejtett hatása <i>in vivo</i>	43
6.3	Limitációk.....	46
6.4	Új tudományos eredmények	47
7	Összefoglalás/Summary	48
8	Irodalomjegyzék.....	50
9	Tárgyszavak	62
10	Köszönetnyilvánítás	63
11	Függelék	64

Rövidítések jegyzéke

ACEi	– angiotenzin-konvertáz enzim inhibitor
ARB	– angiotenzin receptor blokkoló
AT1	– 1-es típusú angiotenzin receptor
AT I	– angiotenzin I
AT II	– angiotenzin II
ADP	– adenzin-difoszfát
ATP	– adenzin-trifoszfát
BK	– bal kamra
BKEF	– bal kamrai ejekciós frakció
CO	– perctérfogat
CV	– kardiovaszkuláris
DecT	– decelerációs idő
EF	– ejekciós frakció
EDV	– végdiasztolés térfogat
EKG	– elektrokardiográfia
EMD	– EMD 53998
ESC	– Európai Kardiológus Társaság
ESV	– végszisztolés térfogat
FSL	– frakcionált szarkomerhossz rövidülés
FS	– frakcionális rövidülés
HR	– szívfrekvencia
HFmrEF	– szívelégtelenség közepes mértékben csökkent ejekciós frakcióval
HFpEF	– szívelégtelenség megtartott ejekciós frakcióval
HFrfEF	– szívelégtelenség csökkent ejekciós frakcióval
Iv.	– intravénás
IVCT	– izovolumetriás kontrakciós idő
IVRT	– izovolumetriás relaxációs idő
Levo	– levosimendan
LVAWd	– bal kamra elülső fal diasztolében
LVAWs	– bal kamra elülső fal szisztolében

MPI	– Tei-index, miokardiális teljesítmény index
MRA	– mineralokortikoid receptor antagonist
NP	– nátriuretikus peptid
NT-proBNP	– N-terminális proBNP
PDE	– foszfodiészteráz
P _i	– inorganikus foszfát
PDEi	– foszfodiészteráz gátló
PLAX	– paraszternális hosszútengelyű metszet
PSAX	– paraszternális rövidtengelyű metszet
PWD	– pulzatis hullámú doppler
RAAS	– renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer
RSL	– nyugalmi szarkomerhossz
OM	– omecamtiv mecarbil
SET	– szisztolés ejekciós idő
SERCA	– szarkoplazmatikus Ca ²⁺ -ATPáz
SV	– pulzustérfogat
SL	– szarkomerhossz
SST	– szupraszternális
SzE	– szívelégtelenség
TDI	– szöveti doppler képalkotás
Tn	– troponin
CTD50	– kalcium tranziens időtartama
4AC	– négyüregű metszet

1 Bevezetés

Az utóbbi évtizedekben a szívelégtelenség (SzE) gyógyszeres és eszközös kezelésében dinamikus fejlődés következett be, ennek ellenére a betegség mortalitása továbbra is igen magas: az első SzE miatti hospitalizációt követően összevethető, sőt meg is haladja a leggyakoribb daganatos megbetegedéseket. A rizikófaktorok gyakoribb előfordulása, a várható élettartam növekedése és a miokardiális infarktus javuló ellátása egyaránt hozzájárult ahhoz, hogy a kórkép prevalenciája folyamatosan növekszik. Kiemelendő, hogy 65 éves kor felett a SzE a sürgős kórházi felvételek egyik leggyakoribb oka. A kórképben szenvedő betegek ellátása hatalmas terhet ró az egészségügyi rendszerre, gazdasági hatása igen jelentős.

A jelenlegi nemzetközi ajánlásoknak megfelelően a SzE gyógyszeres terápiája négy olyan gyógyszercsoporton alapszik, melyek főként a neurohormonális rendszer és a szimpatikus idegrendszer gátlásán keresztül fejtik ki a hatásaikat és jelentősen képesek csökkenteni a SzE mortalitását. A kontraktilis diszfunkció célzott javítása összehúzóerőt fokozó, ún. pozitív inotróp szerekkel eddig nem járt sikerrel, ezen gyógyszercsoport alkalmazásával a bázisterápiát kiegészítve a mortalitási mutatók nem javultak. Így vezettek el az intenzív kutatások a pozitív inotróp szerek egy új csoportjához, melyek közvetlenül a miozin motor aktiválásán keresztül fejtik ki hatásukat, támogatják a szív munkáját és elméletileg kedvezőbb mellékhatásprofilal rendelkeznek.

2 Irodalmi áttekintés

2.1 A szívelégtelenség definíciója, epidemiológiája és csoportosítása

A szívelégtelenség (SzE) a szív strukturális és/vagy funkcionális károsodása következtében létrejövő komplex klinikai szindróma, mely során a betegnek a szívelégtelenségre jellemző típusos panaszai (fulladás, nehézlégzés, fáradékonyság) és tünetei (telt nyaki vénák, pulmonális pangás, bokaödéma) vannak (1). A SzE mind a fejlett, mind a fejlődő társadalmakban igen gyakori. A gyors ütemben növekvő prevalencia legfőbb okai között említendő az előregedő társadalom, rizikótényezők egyre gyakoribb előfordulása, a farmakológiai terápia nagyfokú fejlődése, illetve a SzE hatékonyabb, strukturált, szakmai irányelveknek megfelelő, komplex ellátása (2). Egyes szerzők, kutatások a szívelégtelenség epidemiájáról beszélnek (3). A fejlett országokban a betegség akár a népesség 1-2 %-át is érintheti, 70 éves kor felett pedig akár a 10 %-ot is megközelíti. Egy Magyarországon végzett átfogó vizsgálat alapján a magyar népességre vonatkozó prevalencia kb. 1,6%-ra tehető (4,5), mortalitása pedig vetekszik a malignus betegségekével (6). Mivel a szívelégtelenség egy multifaktoriális betegség, így pontos költsége nehezen becsülhető, ugyanakkor elsődleges kórképként említve a hospitalizációban közel 2%-t teszi ki Európában és USA-ban is egyaránt (7–9).

Az Európai Kardiológus Társaság (ESC) által 2021-ben közölt nemzetközi szakmai ajánlás a SzE csoportosítása, osztályozása a bal kamrai ejekciós frakció (BKEF) alapján az alábbiak szerint történik (10):

1. SzE megtartott ejekciós frakcióval (Heart Failure with preserved Ejection Fraction - HFpEF, BKEF $\geq$ 50%): SzE tünetek és/vagy panaszok, strukturális vagy funkcionális szívizom-károsodás, emelkedett BK-i töltőnyomás, diasztolés diszfunkció objektív jelei és emelkedett nátriuretikus peptid (NP) szintek jellemzik.
2. SzE közepes mértékben csökkent ejekciós frakcióval (Heart Failure with mildly reduced Ejection Fraction - HFmrEF): SzE tünetek és/vagy panaszok mellett a BKEF 41-49% közötti.
3. SzE csökkent ejekciós frakcióval (Heart Failure with reduced Ejection Fraction - HFrEF): SzE tünetek és/vagy panaszok mellett BKEF<40 %.

2.2 A szisztolés szívelégtelenség (HFrEF) patofiziológiája

A szívelégtelenség számos komplex patofiziológiai folyamat végeredménye. Az etiológiától függetlenül (pl.: iszkémia, nyomás és/vagy térfogat túlterhelés, toxikus vagy genetikai) a HFrEF központi eleme a kontraktilis funkció, a pumpafunkció és ennek következtében a perctérfogat (CO) csökkenése, mely számos egymást erősítő kóros adaptációs folyamatot indít el és végső soron klinikai tünetek kialakulásához vezet (11,12). A CO-t a szívfrekvencia (HR) és a pulzustérfogat (SV) szorzatából lehet kiszámolni. Az utóbbit meghatározó tényezők közül kiemelendő az előterhelés (preload), amely tulajdonképpen a miokardiális rostoknak a kontrakció megkezdése előtti feszítettségi állapotától függ és szoros összefüggésben áll a végdiasztolés volumennel (EDV) (13). Az SV másik jelentős tényezője az afterload (utóterhelés), a miokardiumnak az a feszülése, amit az artériás rendszer ellenében kell produkálnia (14), illetve a kontraktilitás, amely tulajdonképpen a szív inotróp állapotát jellemzi. A BK diszfunkció következtében mind a végszisztolés, mind a végdiasztolés térfogat emelkedik, mely a végdiasztolés nyomás és következményesen a bal pitvari nyomás növekedéséhez, végső soron a tüdőkapillárisok szintjén pulmonális pangáshoz vezet (11). A jobb kamra elégtelenség leggyakoribb oka a bal kamra (BK) diszfunkciója, mely hasonló mechanizmusokon keresztül nagyvérköri dekompenzációs tüneteket okoz. A SzE-ben aktiválódó kompenzációs mechanizmusok tulajdonképpen a csökkent CO-t és artériás középnyomás csökkenését próbálják normalizálni, vagy javítani. Ezek közül kiemelendő a Frank-Starling mechanizmus, a neurohumorális rendszer kóros aktivációja és a BK-i remodelling. A Frank-Starling mechanizmus eleinte képes lépést tartani a BK-i végdiasztolés nyomás/térfogat növekedésével, azonban a SzE progressziójával már nem képes a kontraktilis funkció és a SV további javítására (13). A neurohumorális rendszer aktiválódása során felszabaduló hormonok perifériás vazokonstrikció révén növelik a preload-ot, valamint nátrium-visszatartó hatásuk révén folyadékretenciához vezetnek (15,16). A szimpatikus idegrendszer aktivációja fokozott katekolamin (adrenalin, noradrenalin) kiáramlás révén β_1 , β_2 és α_1 receptorokon keresztül számos direkt kardiovaszkuláris (CV) hatást fejtenek ki: javítják a szívizom kontraktilitását, növelik a szívfrekvenciát és a vaszkuláris rezisztenciát, mely változások összessége a CO és a szöveti perfúzió átmeneti javulásához vezet (17,18). HFrEF-ben a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer (RAAS), a szimpatikus idegrendszer, valamint a csökkent CO miatti renális hipoperfúzió következtében aktiválódik, mely az angiotenzin II (AT II) termelődéshez vezet. Az AT II vazokonstrikció révén növeli az artériás középnyomást, továbbá az aldoszteron termelődésének fokozódása révén nátrium- és következményes

folyadékretenciót okoz (19). Annak ellenére, hogy a HFrEF kezdeti stádiumában ezen rendszerek aktiválódása kompenzálni képes a kóros változásokat, hosszú távon negatívan hatnak a szívizomzatra (12,20,21). Ezen patofiziológias folyamatok, illetve kóros hemodinamikai változások végső soron a szívizomzat kóros átépüléséhez, ún. remodellinghez vezetnek (22-24).

2.3 A szisztolés szívelégtelenség (HFrEF) kezelése

Az utóbbi évtizedekben az intenzív kutatásoknak köszönhetően a SzE terápiája jelentős fejlődésen ment keresztül. A SzE-patofiziológia és a kompenzációs mechanizmusok ismeretében jól érthető az egyes gyógyszercsoportok alkalmazásának szükségessége és létjogosultsága. A bázisterápiát képező gyógyszerek közös jellemzője, hogy képesek csökkenteni a mortalitást, a hospitalizációk számát, így javítva a betegség prognózisát. A RAAS-gátló vegyületek közül kiemelendők az angiotenzin-konvertáz enzim gátlók (ACEi), melyek az ACE mediálta angiotenzin I (AT I) → angiotenzin II (AT II) átalakulás folyamatát gátolják, így az AT nem tudja kifejteni káros hatásait a CV rendszerre. Az ACEi pozitív hatásai közül kiemelendő a vazodilatáció révén az afterload csökkentése, de a só- és vízretenció csökkentése révén a preload-ra is hatással van (25–28). A direkt kardiális hatások közül fontos az antiproliferatív, antifibrotikus és anti-remodelling hatás (29). ACEi intolerancia esetén az AT II receptorának, az AT1-nek direkt gátlásán keresztül angiotenzin-receptor blokkolók (ARB-k) alkalmazásával is van lehetőség a RAAS gátlásra, korábban említett hasonló pozitív hatásokkal (30). Számos evidencia áll rendelkezésre a nátriuretikus peptid (NP) útvonal szerepéről HFrEF-ben (pitvari és agyi nátriuretikus peptidek, ANP és BNP). Ezen peptid hormonok a miokardium-feszülés hatására termelődnek, SzE-ben a szintjük a betegség súlyosságától függően különböző mértékben emelkedett lehet (31,32). Aktív formájuk pozitív hatásai közül kiemelendő a nátriurézis, a RAAS gátlása, antiapoptotikus és antiremodellációs hatások, így könnyen érthető, hogy a lebontásukért felelős neutrális endopeptidáz, a neprilizin gátlásával az aktív forma szintje emelhető, és pozitív hatásokat érhetünk el, ahogy ezt több nagy klinikai tanulmány is igazolta már (33–36). Ennek megfelelően ARB-vel kombinálva az eddigi egyetlen neprilizin-inhibitor, a szakubitril szintén a SzE bázisterápiájában alkalmazandó együttesen a RAAS gátlásra és a NP útvonal befolyásolására (10). A mineralokortikoid receptor antagonisták (MRA) szintén jó hatékonysággal alkalmazhatóak, ugyanis a nátrium-reabszorpció gátlásán keresztül hatékonyan képesek fokozni a nátriumürítést, továbbá hosszú távon szintén csökkentik a mortalitást, illetve a kórházi kezelések számát (37,38). A

szimpatikus idegrendszer túlaktivációja szelektív β 1-receptor blokkolók segítségével valósítható meg, melyek kissé ellentmondásosan negatív inotróp hatású vegyületek, azonban hosszú távon a remodeláció- és RAAS-gátló hatásai, illetve túlzott katekolamin stimuláció következtében létrejövő miokardiális toxicitás csökkentése révén kifejezetten jótékony hatással rendelkeznek, mortalitáscsökkentő hatásúak (17,18,39–42).

Az utóbbi évek intenzív kutatásának eredményeképpen a diabetológiai indikációval is alkalmazott nátrium glükóz kotranszporter 2 gátlók (SGLT2i) 2021-ben több nagy tanulmány pozitív eredménye alapján kerültek be a HFrEF bázisterápiájába mind az amerikai, mind az európai ajánlások szerint. Hatásmechanizmusuk még továbbra sem teljesen tisztázott, azonban az ismert, hogy a csökkenő glükóz- és nátrium-reabszorpció valószínűleg jelentősen hozzájárul ezen szerek diuretikus hatásához, következtetésképp hatékonyan csökkentik az intersticiális ödémát és a preload-ot (43–46).

A neurohormonális blokádnak alkalmazásának hatására a hirtelen szívhalál gyakorisága is csökken (47), azonban incidenciája a betegség progressziójával növekszik, így azon szívelégtelen betegek esetében, akik legalább három hónapig tartó optimális gyógyszeres kezelés ellenére is 35% alatti EF-el rendelkeznek, primer prevenció céljával, míg malignus kamrai ritmuszavar/abortált szívhalál esetében pedig szekunder prevenció indikációval implantálható kardioverter defibrillátor (ICD) beültetése javasolt. Kardiális reszinkronizációs terápia azon betegek esetében alkalmazható, akik optimális gyógyszeres terápiában részesültek legalább három hónapig, szívelégtelenség tünetei észlelhetők, BKEF 35% alatti, továbbá az elektrokardiográfián (EKG) legalább 150 ms-ot meghaladó QRS szélesség észlelhető típusos bal Tawara-szár blokk képe mellett (10).

2.4 Az előrehaladott stádiumú szívelégtelenség

A SzE progresszív lefolyású betegség, mely a betegek életminőségének fokozatos romlásához vezet (48). A New York Heart Association (NYHA) a mindennapi aktivitás és a betegek szubjektív panaszai alapján négy funkcionális stádiumot különít el:

NYHA I. stádium: A mindennapi terhelés nem okoz panaszt, erőteljesebb fizikai aktivitás esetén jelentkezhet fulladás, fáradékonyság.

NYHA II. stádium: Nyugalomban a betegnek nincsenek panaszai, azonban a napi tevékenységek során fáradtság, fulladás, szívdobogásérzés jelentkezik.

NYHA III. stádium: Nyugalomban nem jelentkezik fulladás, azonban a megszokottnál kisebb fizikai aktivitás is tünetet okoz.

NYHA IV. stádium: Nyugalomban is jelentős nehézlégzés jelentkezik, a mindennapi tevékenységek elvégzése gyakorlatilag nem lehetséges.

Ha a korábban említett optimális gyógyszeres és eszközös kezelés ellenére is rosszabbodik a beteg állapota, a pumpafunkció tovább romlik, előrehaladott stádiumú SzE alakul ki („advanced heart failure”). Ezek a páciensek a szívelégtelen betegpopuláció kb. 10%-át teszik ki. Hazánkban mintegy 10-30 ezer előrehaladott stádiumú szívelégtelen beteggel kell számolnunk, azonban számuk a terápia fejlődésének következtében növekedni fog az elkövetkező években. Az ESC Szívelégtelenség Munkacsoportja (Heart Failure Association - HFA) által 2018-ban javasolt kritériumrendszer és a 2023-ban kiadott módosítások alapján előrehaladott stádiumú SzE-ről az optimális gyógyszeres és eszközös kezelés ellenére, az alábbi feltételek közül legalább egy megléte esetén beszélünk (49):

1. Súlyos és perzisztáló SzE tünetek (NYHA III(b) vagy IV)
2. Súlyos kardiális diszfunkció jelenléte: $BKEF \leq 30\%$ vagy izolált jobb kamra elégtelenség vagy nem korrigálható, súlyos strukturális eltérés, perzisztáló, magas natriuretikus peptid (BNP vagy NT-proBNP) szintek, súlyos diasztolés diszfunkció.
3. Visszatérő SzE miatti hospitalizáció/sürgős ambuláns vizit vagy sürgősségi osztályos megjelenés egy éven belül több alkalommal, melynek során magas dózisú intravénás (iv.) diuretikum, inotróp vagy vazopresszor alkalmazására volt szükséges.
4. A fizikai aktivitás súlyos korlátozottsága (6 perces sétateszt <300 méter vagy $VO_{2max} < 12-14$ ml/kg/perc) SzE következtében.

A SzE-ben szenvedő betegek ezen kiemelkedő jelentőségű csoportját gyakori állapotromlások, kifejezetten rossz prognózis jellemzi, esetükben terápiás előrelépésre van szükség a tünetek csökkentése, az életminőség javítása és a hospitalizációs arány csökkentése érdekében. Ezen betegpopulációban a definitív, végleges megoldás a szívtranszplantáció lenne, azonban sajnos kevés beteg van, aki megfelel a transzplantációs listára való felkerülés szigorú kritériumainak. A várólistára került betegek sem jutnak mindnyájan szívhez annak ellenére, hogy az utóbbi évtizedben hazánk Eurotransplant-hoz történő csatlakozása következtében az elvégzett

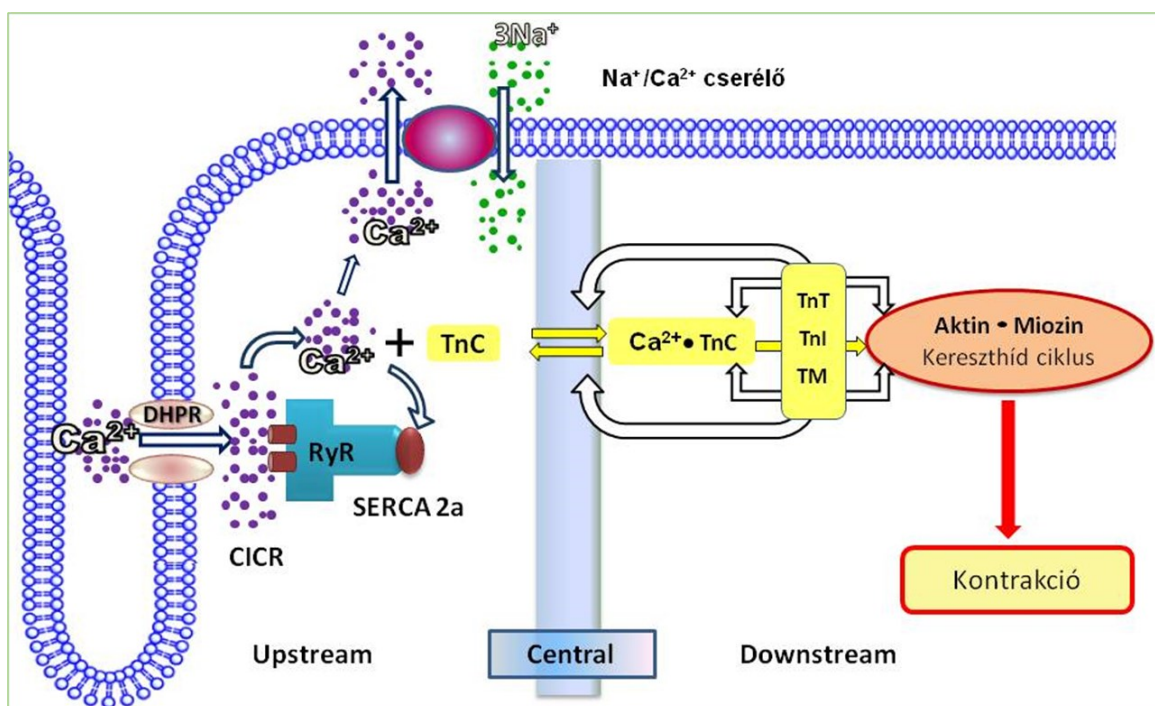
szívtranszplantációk száma jelentősen nőtt (50). További átmeneti, vagy akár végleges terápiaként jön szóba a rövid, illetve hosszú távú mechanikus keringéstámogató eszközök alkalmazása, de hasonlóan a szívtranszplantációhoz, ezen betegnek is szigorú követelményeknek kell megfelelniük. A betegek nagyobb hányadánál tehát konzervatív/gyógyszeres kezelés jön szóba, melynek egyik hatékony eszköze lehet a pozitív inotróp/inodilátor kezelés. Az aktuálisan alkalmazott nemzetközi szakmai ajánlásoknak megfelelően a konvencionális inotróp és vazopresszor szerek (dopamin, noradrenalin, adrenalin) kizárólag kardiogén sokk esetén, rövidtávú terápia keretein belül alkalmazandók (10). Ezen szerek hosszútávú használata több tanulmány eredményei alapján növeli a mortalitást és nem csökkenti a hospitalizációk számát (51,52). A jelenlegi kutatások célja olyan szelektív, kontraktilitást fokozó gyógyszerek kifejlesztése, amelyek már a HFrEF korábbi stádiumában is alkalmazhatók és primeren a pumpafunkció javítását célozzák.

2.5 A pozitív inotróp hatású szerek csoportosítása

A szívizomsejtek membránjának depolarizációjakor feszültségfüggő L-típusú Ca^{2+} csatornák aktiválódnak, mely során a beáramló ionok Ca^{2+} -felszabadulást váltanak ki a szarkoplazmatikus retikulumból (SR) a rianodin-receptorok aktiválásával. Ezen folyamatok hatására az intracelluláris (IC) térben a Ca^{2+} -koncentráció a körülbelül 100 nmol/l-es nyugalmi szintről körülbelül 1 $\mu\text{mol/l}$ -re emelkedik (53–56). Az így létrejött kalciumionokban gazdag IC környezet lehetővé teszi, hogy a citoszólikus térben diffundálva a kontrakció létrejöttében szerepet játszó, erőgeneráló komplex első szabályozó fehérjéjével, a troponin C-vel (TnC) (miofibrilláris rendszer tulajdonképpeni Ca^{2+} -érzékelője) kölcsönhatásba tudjon lépni. Ezáltal olyan konformációváltozás jön létre a troponin-tropomiozin komplexben, hogy a TnI által gátolt miozin kötőhelyek szabaddá válnak és megteremtik az aktin-miozin kölcsönhatást, ezáltal az erőgenerálás lehetőségét. A kontrakciót követően számos energiaigényes folyamat együttes, kooperatív működése szükséges ahhoz, hogy a sejten belül korábban létrejött emelkedett Ca^{2+} -szint a nyugalmi szintre álljon vissza. Ezen transzportfolyamatok közül az egyik legjelentősebb a szarkoplazmatikus Ca^{2+} -ATPáz (SERCA) aktív működése, illetve a szarkolemma $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -cserélője, valamint - kisebb mértékben, de szintén energiaigényes folyamat révén - a szarkolemmális Ca^{2+} -ATPáz és a mitokondriális uniporter (54,56–58).

2.5.1 Konvencionális/upstream mechanizmusú pozitív inotróp szerek

Az „*upstream*” mechanizmus útján ható szerek közé azon tradicionális pozitív inotróp szerek sorolhatóak, amelyek az IC Ca^{2+} -koncentrációt különböző szignáltranszdukciós és/vagy receptoriális útvonalak módosításán keresztül befolyásolják (1. ábra). Ezen csoport tagjai a hagyományos pozitív inotróp szerek: a klinikai gyakorlatban főként akut SzE kezelésében alkalmazott dobutamin képes a $\beta 1$ -receptorok aktiválásán keresztül olyan foszforilációs folyamatokat iniciálni, melyek végső soron az IC Ca^{2+} -szint növekedéséhez vezetnek (59). A dobutaminhoz hasonlóan a dopamin, megfelelő dózistartományban képes aktiválni a $\beta 1$ -receptorokat, akárcsak az adrenalin és a noradrenalin. A milrinon a foszfodiészteráz enzim 3-as (PDE3) izoformájának a gátlásán keresztül növeli a ciklikus adenzin monofoszfát (cAMP) szintet, s így foszforilációs kaszkádot indít be (60). A $\beta 1$ receptor ingerlése szintén a cAMP szint növelésén keresztül teszi ugyanezt. A szívglikozidok, pl.: digoxin, digitoxin (a pozitív inotróp szerek prototípus vegyületei melyek a Na^+/K^+ -cserélő gátlásán keresztül fejtik ki hatásukat) klinikai gyakorlatban történő alkalmazása az elmúlt időszakban jelentősen visszaszorult (61,62). Ezen gyógyszerek közös tulajdonsága, hogy növelik az IC Ca^{2+} -szintet, ezáltal a miokardium energiaigényét és oxigénfelhasználását, amely hosszú távon kifejezetten előnytelen a szívizomsejtek energetikája szempontjából (63). A Ca^{2+} -túltöltöttség továbbá melegágyát képezi a pitvari és kamrai aritmiák kialakulásának. Számos klinikai tanulmány vizsgálta ezen gyógyszer-molekulák mortalitásra gyakorolt hatását, melyek során bebizonyosodott, hogy a mortalitást nem javítják, sőt bizonyos esetben még rontják is (64). Alkalmazásuk során igen körültekintőnek kell lennünk, nagy figyelmet kell fordítanunk a megfelelő indikációra, és a lehető legrövidebb ideig történő alkalmazásra. Jelenleg az ESC szakmai irányelvében a pozitív inotróp szerek IIb osztályú ajánlással (C evidencia szint), kizárólag hipotenzió (szisztolés vérnyomás <90 Hgmm) és/vagy megfelelő töltőnyomás ellenére perzisztáló hipoperfúzió jeleit/tüneteit mutató betegek esetén javasoltak a CO, a vérnyomás növelése, a perifériás perfúzió javítása és a célszerv funkció megőrzése céljából (63,65,66).



1. ábra A pozitív inotróp szerek csoportosítása és hatásmechanizmusuk (magyarázat a szövegben) (Ca²⁺: kalcium; CICR: Ca²⁺-indukálta Ca²⁺-felszabadulás; DHPR: dihidropiridin-receptor; RyR: rianodin-receptor; SERCA2a: szarkoplazmatikus retikulum ATP-áz; TnC, TnI és TnT: troponin C, I és T; TM: tropomiozin) (módosítva Endoh M.: Circ J 2008;72:1915–1925 alapján)

2.5.2 Centrális és downstream mechanizmus útján ható szerek

A „centrális” mechanizmusú gyógyszerek a szívműködés összehúzódnak egy kulcsfontosságú molekuláját célozzák, a TnC-t, ami mintegy Ca²⁺-szenzorként funkcionál az összehúzás folyamatában (1. ábra). Ezen gyógyszerek, mint például a levosimendan (Levo), fokozzák a TnC Ca²⁺ iránti affinitását. A Levo továbbá ATP-szenzitív K⁺-csatorna aktiválásán keresztül vazodilatációt eredményez, ezért inodilatornak is nevezik. Azonban magasabb plazmakoncentrációk esetén az „upstream” mechanizmus jellegzetességeit is mutatja, ugyanis PDE3-gátló hatással rendelkezik (67–69).

A „downstream” mechanizmus jellegzetessége, hogy az IC Ca²⁺-szintre nem fejt ki semmilyen hatást, így teljesen mentes a konvencionális pozitív inotróp szerekre jellemző mellékhatásoktól, így feltételezhetően energetikailag is kedvezőbb a szívműködésnek (1. ábra). Jelenleg ebbe a csoportba tartozó molekulák a miozin-ATPáz aktivitásának a fokozásán keresztül hatnak. Ezen gyógyszer-csoport egy korábbi képviselője az EMD 53998 (EMD), mely

egy enantiomer molekula. Egyik párja downstream mechanizmus útján fejti ki a hatását, míg a másik PDE3-gátló hatással rendelkezik, azonban korai vizsgálatokban elbukott, mint potenciális pozitív inotróp vegyület (70–73). Utóbbi évtized intenzív kutatásainak eredményeként fejlesztették ki az omecamtiv mecarbilt (OM), illetve a danicamtivot, melyek valójában csak a miozin molekula ATPáz aktivitásának a fokozásán keresztül fejtik ki hatásukat, ebből kifolyólag úgy hivatkoznak rájuk, mint miozin-aktivátorok (74,75).

2.6 A miozin-aktivátorok

2.6.1 Hatásmechanizmus

A szívizom összehúzódásának molekuláris alapegységét, a szarkomert a vékony (aktin) és vastag (miozin) filamentumok együttese alkotja. A miozin molekula gyakorlatilag két globuláris fejből és egy farki részből áll. Számos élettani folyamatban - ahol mozgásszabályozás történik - esszenciális szerepet töltenek be, így könnyen érthető, hogy a szívizomsejt összehúzódásának is egy kulcsmolekulája. A miozinfaj kiemelkedő fontosságú abból a szempontból, hogy rajta található az aktin és adenosin trifoszfát (ATP) kötőhely, illetve ennek megfelelően ATPáz aktivitással rendelkezik, ezáltal a kémiai energiát fizikai energiává képes alakítani. A vékony filamentum gyakorlatilag két összefonódott globuláris aktin molekulából épül fel, mely a miozin számára biztosítja a kontrakció létrejöttének alapját képező akto-miozin kölcsönhatás kötőhelyeit. A két filamentum között kialakuló szoros molekuláris kölcsönhatások teszik lehetővé a kontrakció és az erő kifejtés lehetőségét. Ez egy jól szabályozott, meghatározott lépésekből álló folyamat. A miozin ATP kötését követően ledisszociál az aktinról és izomerizálódik, hogy az emelőkarja erőgenerálásra alkalmas pozícióba kerülhessen. Eközben az ATPáz aktivitással rendelkező miozinfaj az ATP-t adenosin difoszfátra (ADP-ra) és inorganikus foszfátra (P_i -ra) hidrolizálja, amely alkalmassá teszi a vékony filamentumot ismételt kötésére, azonban ez a kötés még nem képes erőt generálni (gyenge kötés). A P_i disszociációját követően az aktin és a miozin között kialakul az erős kötés, amelynek hatására a miozin emelőkarja elbillenve az aktint meghúzza, ezzel erőt generálva (power-stroke). Ismételt ATP-kötést követően a ciklus előlről kezdődik. A miozin erőgeneráló képességét az határozza meg, hogy mennyi idő alatt történik meg az ATP hidrolízise az ATPáz által, és milyen gyorsan disszociál a P_i a miozinfajról (76).

A miozin-aktivátorok, az OM és a danicamtiv képesek a kardiális típusú miozin S1 régiójához szelektíven kötődni (77–79). Ezen szoros interakció eredményeként allosztérikusan oly módon befolyásolják a miozint, hogy annak ATP-hidrolizáló képessége fokozódik. Ez

elősegíti az ADP és P_i képződését, illetve a P_i disszociációját a miozinefejről, így felgyorsítva a ciklus sebességhatározó lépését és a miozin-ADP komplex keletkezését, azaz a gyengén kötött formából az erősen kötött formába való átalakulást, melyet aztán az erőgenerálás lépése követ. Teoretikusan így a folyamatnak köszönhetően megnövekszik az egy ciklus alatt kialakuló aktin-mozin interakciók száma, így lehetővé téve a nagyobb erő kifejtését az oxigénfelhasználás növekedése nélkül (77).

2.6.2 Omecamtiv mecarbil

A daganatellenes terápia fejlődése során nagy áteresztőképességű módszer (HTS) segítségével olyan molekulákat kerestek, melyek a sejtosztódásban szerepet játszó motorfehérjéket, a kinezineket képesek gátolni. Ennek során azonban, nem egy gátló, hanem aktiváló molekulát találtak. Így egyéb motoros funkcióban szerepet játszó fehérjéket, mint pl. a miozint kezdték el vizsgálni és hosszas kutatás eredményeként hoztak létre egy olyan molekulát, amely már alacsony koncentrációban is képes a miozin-ATPáz aktivitását fokozni. További modifikációkkal jutottak el az OM-hoz (CK-1827452), mely *in vivo* kísérletek elvégzésére is alkalmasnak bizonyult (77). Preklinikai vizsgálatok során igazolták, hogy képes jelentősen fokozni a patkányból izolált szívizomsejtek kontrakciós erejét, a kontrakciós idő kisfokú elnyújtása révén, azonban a kalcium tranziens befolyásolása nélkül (77,80). *In vivo* vizsgálatok során különböző szívelégtelenség-állatmodellekben a BK funkció javult az oxigénfelhasználás fokozódása nélkül (81). Egy tanulmány azonban az oxigénfogyasztás kismértékű növekedését feltételezte, melyet a miozin molekula bazális ATPáz aktivitásának növekedésével hoztak összefüggésbe (82).

Az *in vivo* és *in vitro* vizsgálatok pozitív eredményei tették lehetővé, hogy humán kísérleteket kezdjenek az új gyógyszerjelölttel. Az első dóziskereső klinikai vizsgálat során iv. OM (időtartam 6 óra, dózis 0,005-1,0 mg/kg/óra) kezelést hasonlítottak össze placeboval. A vizsgálat során a szisztolés ejekciós idő (SET) jelentős növekedése mellett a BKEF-ban és frakcionális rövidülésben (FS) észleltek jelentős növekedést a placebo csoporttal szemben. 0,625 mg/kg/óra dózis felett azonban a SET jelentős megnyúlása, így a diasztolés idő rövidülése következett be (83). Ezt követően stabil optimális gyógyszeres terápián lévő HFrEF (BKEF<40%) betegekben vizsgálták a szert, mely során a BK funkciót jellemző paraméterek (BKEF, FS, SV) javulását tapasztalták jelentős mellékhatás nélkül. A szer jól tolerálhatónak bizonyult (84).

Kezdetben az OM-t az akut SzE kezelésére szerették volna alkalmazni iv. készítmény formájában, így a viszonylag pozitív eredményeket mutató dóziskereső vizsgálatok alapján megtervezték az *ATOMIC-HF* tanulmányt (Acute Treatment With Omecamtiv Mecarbil to Increase Contractility in Acute Heart Failure). Az OM-t iv. készítmény formájában alkalmazták akut SzE-ben szenvedő (BKEF<40%, emelkedett NT-proBNP szint, nehézlégzés) betegekben 48 órán keresztül, folyamatos infúzió formájában. A vizsgálat pozitív eredménye abban mutatkozott meg, hogy a legmagasabb alkalmazott OM koncentráció esetében 48 óránál 41%-kal nagyobb arányban csökkent a nehézlégzés, valamint szintén megfigyelhető volt a SET dózisfüggő, jelentős növekedése. Adverz események esetében nem találtak különbséget, habár kismértékű növekedés volt megfigyelhető a TnI szintekben, de ez nem mutatott összefüggést az alkalmazott OM dózissal (85).

COSMIC-HF tanulmány (Chronic Oral Study of Myosin Activation to Increase Contractility in Heart Failure) során elsőként alkalmazták az OM-t nagy számú, stabil krónikus HFrEF-ben szenvedő (448 NYHA II-III.), optimális gyógyszeres kezelésben részesülő betegekben 20 héten keresztül. A farmakokinetika alapján titrált (2x25-50 mg) OM dózisok mellett, egy fix dózisú (2x25 mg) és egy placebo csoport került kialakításra. Nem kerültek beválogatásra azon betegek, akik miokardiális infarktust szenvedtek el 30 napon belül, instabil angina pectoris klinikai képét mutatták vagy krónikus veseelégtelenségben szenvedtek. A farmakokinetikai jellemzők alapján titrált betegcsoportban a placebo csoporthoz képest szignifikánsan magasabb SET-t és SV-t, valamint a BK-i végszisztolés és végdiasztolés átmérő, a szívfrekvencia és az NT-proBNP-plazmaszint csökkenését tapasztalták (86).

A GALACTIC-HF vizsgálat (Global Approach to Lowering Adverse Cardiac outcomes Through Improving Contractility in Heart Failure) az előző vizsgálatok alapján megtervezett multicentrikus, randomizált, kettős vak, placebo kontrollált fázis III. tanulmány, melynek elsődleges célja az OM hatékonyságának és biztonságosságának, CV kemény végpontokra gyakorolt hatásának vizsgálata volt HFrEF betegeken. Összesen 8256 tünetes HFrEF beteg (BKEF<35%, NYHA II-IV-es funkcionális stádium, optimális szívelégtelenség bázisterápia vagy szívelégtelenség miatti hospitalizáció utáni gyógyszerittrálási fázis, BNP>125 pg/ml vagy NT-proBNP>400 pg/ml sinus ritmus, illetve >375 pg/ml és >1200 pg/ml pitvarfibrilláció esetén) került beválogatásra, akik beválogatás előtt legalább 30 napig SzE bázisterápiában részesültek. Kizárásra kerültek azon betegek, akiknél hemodinamikai instabilitás, súlyos veseelégtelenség, jelentősen emelkedett vagy csökkent szívfrekvencia volt jelen, illetve 140 Hgmm feletti vagy 85 Hgmm alatti szisztolés vérnyomás, míg a diasztolés vérnyomás esetén

pedig a 90 Hgmm feletti érték volt kizáró ok. A COSMIC-HF tanulmányban alkalmazott farmakokinetikai titrálási sémát alkalmazták 2x25 mg kezdődózissal, majd rendszeres plazmakoncentráció-ellenőrzés mellett történt a gyógyszer titrálása a 200-1000 ng/ml-es plazmakoncentráció eléréséig. Miokardiális iszkémia gyanúja esetén azonnal felfüggesztésre került a kezelés. Az elsődleges összetett végpont, azaz a CV halálozás vagy SzE miatti esemény (hospitalizáció vagy sürgős vizit) az OM-lal kezelt betegekben szignifikánsan alacsonyabb volt a placebo csoporthoz képest. A kompozit végpont összetevőit külön vizsgálva, a CV okból bekövetkező halálozás tekintetében nem volt szignifikáns különbség, azonban SzE miatti események tekintetében jelentős csökkenés volt megfigyelhető az OM csoportban. A másodlagos végpontok (CV halálozás, Kansas City Kardiomiopátia Kérdőív, összhála) esetében nem volt jelentős különbség a két betegcsoport között. Az előre meghatározott alcsoportokban sem találtak szignifikáns különbségeket, azonban az OM javára egy előnyös tendencia volt megfigyelhető a sinusritmusban lévő, illetve kevesebb, mint 28%-os BKEF-val rendelkező betegek esetében. Mind a hospitalizált, mind az ambulánsan bevonásra került átlag feletti NT-proBNP értékekkel rendelkező betegek alcsoportjában az OM előnyösebbnek mutatkozott, azonban statisztikai szempontból ez nem bizonyult jelentősnek. Továbbá kismértékű, de nem szignifikáns növekedés volt a TnI-szintben és jelentősen csökkent az NT-proBNP-szint is OM-lal kezelt betegek esetében. Egyéb biztonságossági paraméterben nem volt különbség (26,70,87–89).

2.6.3 Danicamtiv

Feltételezhetően az OM-lal végzett klinikai vizsgálatok bizonytalan eredményei ösztönözték a kutatókat egy új közvetlen miozin-aktivátor, a danicamtiv kifejlesztésére. A danicamtiv szelektivitását a szívizom-miozinra, a vázizom- vagy simaizom-miozin izoformákkal szemben nagyobbak tartják, mint az OM esetében (90). Mindazonáltal az OM-hoz hasonlóan a danicamtiv is felgyorsítja a tisztított humán S1 miozin molekulák ATPáz aktivitásának sebességét *in vitro*, és növeli a SET-t és az BKEF-t, valamint a bal pitvari szisztolés funkciót HFrEF *in vivo* kísérleti kutya modelljében (90). A fázis I. klinikai vizsgálat során hat kohorszt hoztak létre, akik különböző dózisú danicamtiv kezeléseket részesültek, azonban a pontos dózisokat nem említették, csupán hat órával a beadást követően vizsgálták a plazmakoncentrációt és ez alapján, alacsony, közepes és magas koncentrációjú csoportokat hoztak létre, ahol a BK funkció javulását tapasztalták a SET megnyúlása mellett a diasztolés funkció romlása nélkül. Ezen eredmények alapján megtervezték és elvégezték a

dóziseszkalációs vizsgálatokat szívelégtelen betegekben, ahol a BK szisztolés funkció javulása mellett átmeneti tünetmentes Tn plazmakoncentráció-emelkedést tapasztaltak a betegek 23%-ánál. Mindazonáltal ez a fázis II. klinikai vizsgálat és egy farmakokinetikai vizsgálat eredménye is alátámasztotta a danicamtiv biztonságosságát és tolerálhatóságát (90–93). Egy nemrég elvégzett preklinikai vizsgálatban az OM adagoláshoz képest szélesebb terápiás ablak, nagyobb kontraktilis funkció-javító potenciál és kedvezőbb luzitróp hatás társult danicamtiv alkalmazásakor, amelyet mesterséges szívizomszöveten végeztek el (94). Habár meg kell jegyezni, hogy a danicamtivra vonatkozó preklinikai és klinikai adatok még mindig szűkösek és bizonyos mértékig homályosak, különösen ennek az új miotrópnak a diasztolés funkcióra kifejtett hatásaira vonatkozóan (90,94,95).

3 Célkitűzések

Célul tűztük ki *in vitro* modellrendszerben izolált, intakt szívműködő sejteken megvizsgálni a különböző OM koncentrációk hatására létrejövő szisztolés és diasztolés szarkomerhossz-változásokat, azok kinetikáját és összefüggéseit, valamint az IC Ca^{2+} -tranziensben bekövetkező változásokat. Komparátor vegyületekként EMD-t és Levo-t használtunk.

In vivo vizsgálatunk során részletesen kívántuk elemezni az új típusú miozin-aktivátornak, a danicamtivnak a szív ciklus időtartamaira, a szisztolés és diasztolés funkcióra kifejtett hatásait.

4 Anyagok és módszerek

4.1 *In vitro* kísérletek

4.1.1 A szívizomsejtek izolálása

Az *in vitro* vizsgálataink során kutyából enzimatikusan izolált, BK-i szívizomsejteket használtunk, melyek intakt membránrendszerrel rendelkeznek. Az elektrofiziológiai tulajdonságok szempontjából a kutyából izolált szívizomsejtek kiválóan alkalmazhatóak az emberi szívizomsejtek modellezésére. Kísérleteink során, ivarérett, kutatási célra tenyésztett, vegyesen hím és nőstény kutyából (N=6, súlyuk: $10,6 \pm 2,1$ kg, életkor: $15,1 \pm 4,2$ hónap) származó BK-i szívizomsejteket használtunk. Az állatokból megfelelő anesztéziát alkalmazva (ketamin-hidroklorid 10 mg/ttkg dózisban - Calypsol, Richter Gedeon Nyrt., Magyarország, kiegészítve xilazin-hidrokloriddal 1 mg/ttkg dózisban) a mellkas megnyitását követően a szív eltávolításra került és egy perfúziós rendszerre helyeztük, majd a bal elülső leszálló koszorúeret kanuláltuk. Az izolált szívizomsejteket enzimátikus diszperziós technikával nyertük, először Ca^{2+} -mentes módosított Joklik-oldatot (összetétel: 2,5 g/l, taurin, 175 mg/l piruvát, 13,5 mg/l allopurinol, 750 mg/l ribóz, és 200 mg/l NaH_2PO_4 , Minimum Essential Medium Eagle, Joklik Modification; Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) alkalmaztunk 5 percig, majd 30 percig tartó perfúzió következett 1 mg/ml kollagenázt (II. típus, Worthington Biochemical Co., Lakewood, NJ, USA) és 0,2% borjú szérumalbumint (Fraction V., Sigma-Aldrich) tartalmazó Joklik-oldattal. Az így nyert elfolyósodott szövetdarabokat $50 \mu\text{M}$ Ca^{2+} -ot tartalmazó Joklik-oldatba helyeztük, növekvő Ca^{2+} -koncentrációjú Joklik-oldatban több lépcsős folyamaton keresztül mostuk és szűrtük a sejteket. Ezt követően a szívizomsejteket normál Ca^{2+} -koncentrációjú oldatban a mérésekig 15°C -on tároltuk (96,97).

4.1.2 A Ca^{2+} -szint változásának és a szarkomerhossz rövidülésének a mérése

A szívizomsejteket $5 \mu\text{M}$ koncentrációjú Fura-2 AM Ca^{2+} -érzékeny ratiometrikus fluoreszcens festékkel inkubáltuk 30 percig pluronsav F-127 (25 mg/ml) jelenlétében, hogy elkerüljük a festék korai eliminációját az IC térből. 25 mg pluronsav F-127-et 1 ml DMSO-ban oldottunk fel, és ebből az oldószerből készítettünk Fura-2 AM törzsoldatot. A szívizomsejteket egy inverz mikroszkóp (Nikon TS-100) állványán lévő sejt kamrában helyeztük el Tyrode-oldatban (amely 144 mM NaCl, 5,6 mM KCl, 2,5 mM CaCl_2 , 1,2 mM MgCl_2 , 5 mM HEPES és 11 mM dextróz, pH=7,4). A sejteket és Tyrode-oldatot tartalmazó kamra végső térfogata 1

ml volt. Az ülepítést követően a további kísérletekhez, olyan téglalap/rúd alakú sejteket választottunk ki, amelyek vizuális ellenőrzés során megfelelő összehúzódással rendelkeztek a téringerlés hatására és morfológiailag (tisztá citoplazma, éles szélű, jól látható csíkolat) is alkalmasnak bizonyultak. A téringerlés során 0,1 Hz-es frekvenciát alkalmaztunk (Experimenta Setup, MDE, Heidelberg). A Fura-2 Ca^{2+} -telítettség függvényében eltérő hullámhosszokon gerjeszthető, Ca^{2+} kötött formában 340 nm-en, míg Ca^{2+} hiányában 380 nm-en rendelkezik excitációs maximummal. Így a 340, illetve 380 nm-en gerjesztett Fura-2 festék arányainak a változása jól tükrözi az IC térben létrejövő Ca^{2+} -szint változását az izolált szívizomsejteken téringerlést követően. A Ca^{2+} -kötött és a Ca^{2+} -ddementes Fura-2 festék excitációjához 340 és 380 nm között váltakozó gerjesztési hullámhosszúságot használtunk. A fluoreszcens emissziót mindkét hullámhossz esetében 510 nm felett detektáltuk, és a rögzített jeleket 120 Hz-en digitalizáltuk a FeliX szoftver segítségével (Ratiometer RM-50 System, Horiba, New Brunswick, NJ, USA). A Felix GX szoftver a szarkomerhossz modul (SL-101HS HORIBA/PTI Piscataway, NJ) segítségével választottuk ki a szívizomsejt egy régióját, hogy nyomon követhessük a kardiomiociták harántcsíkolat mintázatának a változását. A szívizomsejtről nyert optikai sűrűség mintázat változásának alapján a program gyors Fourier transzformációt alkalmazva, az optikai denzitás változást felhasználva kalkulálta az aktuális szarkomerhosszt (SL-T) (98). A kísérleti protokoll a következő volt: a szívizomsejteket 0,1 Hz-en legalább 2-3 percig stimuláltuk, hogy minden kísérlet elején elérjünk egy állandósult „steady-state” állapotot. A nyugalmi (stimulálatlan) SL-t a kezdeti kondicionálás után folyamatosan mértük egy nagysebességű kamera segítségével. Az egyes kísérletben alkalmazott gyógyszerekkel OM-lal (0,03 μM , 0,1 μM , 0,3 μM vagy 1 μM végkoncentrációban), Levo-nal (1 μM) vagy EMD-vel (1 μM) 5-8 percig inkubáltuk a sejteket, majd ismételt téringerléseket kezdtünk és rögzítettük a kontrakciókat és a Fura 2 arány változásait, mely tükrözi az IC térben a Ca^{2+} -szint változásokat.

4.1.3 A kontraktilis paraméterek és Ca^{2+} -tranziensek jellemzése

A szívizomsejtek rövidülésének, relaxációinak és IC Ca^{2+} -szint változásainak több paraméterét is részletesen vizsgáltuk. A nyugalmi (stimulus nélküli) SL (RSL; μm) a steady state állapot elérést követően, illetve az egyes kezeléseket követően került rögzítésre. A frakcionális szarkomerhossz rövidülést (FSL; %) a következő egyenlet segítségével számoltuk ki: $\text{FSL} = (\text{diasztolés SL} - \text{szisztolés SL} / \text{diasztolés SL}) * 100$. Az összehúzódás időtartamát (s) a szívizomsejtek összehúzódásának kezdetétől a relaxáció végéig tartó időtartamként határoztuk

meg. Az összehúzódás és a relaxáció sebességét ($\mu\text{m/s}$) az összehúzódások, illetve a relaxációk megfelelően kiválasztott szakaszának lineáris illesztésével határoztuk meg. A nyugalmi Ca^{2+} -szintet a Fura-2 arány (fluoreszcens intenzitás aránya 340 és 380 nm-es gerjesztésnél) alapján becsültük a kiindulási értéken. A Ca^{2+} -tranziensek amplitúdóját a Ca^{2+} -tranziensek csúcsszintje és a nyugalmi Ca^{2+} -szint közötti különbséggént határoztuk meg. A Ca^{2+} -tranziensek kialakulásának a sebességét a Ca^{2+} -tranziensek felszálló fázisaira illesztett egyenes meredekségének tekintettük (1/s). A Ca^{2+} -tranziens lecsengési kinetikáját egyetlen exponenciálisra illesztettük, és annak sebességi konstansával (K; 1/s) jellemeztük. A Ca^{2+} -tranziens időtartamát (CTD50; s) a tranziens fel- és leszálló szárának 50%-os szintjei között mértük.

4.2 *In vivo* kísérletek

4.2.1 Kísérleti elrendezés, állatmodell

Az *in vivo* kísérleteket 8-12 hetes felnőtt Sprague-Dawley patkányokon (N= 14, súly: $417,90 \pm 51,95$ g, Charles River Laboratories Inc., Németország) végeztük, és szabályozott hőmérsékletű helyiségben, 12-12 órás sötét-világos ciklusban tartottuk őket. A patkányokat intramuszkuláris ketamin/xilazin kombinációval (75/5 mg/kg) altattuk el és ezt követően a mellkas szőrzetüket leborotváltuk, a farokvénába kanült (26G) helyeztünk (a kanült a kísérletek végén eltávolítottuk), és az állatokat háton fekvő helyzetben egy melegítőpadra (Visual-Sonics SR200) helyeztük (39°C). Az echokardiográfia során folyamatosan három elvezetési EKG rögzítést és monitorizálást végeztünk. A danicamtivot iv., 2 mg/kg dózisban egyszeri bolusban adtuk be a helyi állatgondozási bizottság által jóváhagyott protokoll szerint (4-1/2019/DEMÁB).

4.2.2 Konvencionális echokardiográfia

A transztorakális echokardiográfiát (TTE) a Vevo 3100 képalkotó rendszerrel végeztük, amely a Vevo Imaging Station-t (VisualSonics, Amszterdam, Hollandia) tartalmazta, és egy magas frekvenciájú transzducerrel (MX250, 14-28 MHz) volt felszerelve. Az echokardiográfia a danicamtiv iv. beadása után 5 perccel kezdődött és legfeljebb 15 percig tartott. Az adatgyűjtést B-, 2D-, M- és Doppler-módban végeztük, paraszternális hosszú- és rövidtengelyű (PSLAX és PSAX) valamint szupraszternális (SST) és apikális 4 üregű (A4C) nézetekből. A vizsgálatokat az American Society of Echocardiography iránymutatásai szerint végeztük el. A B-mód

képalkotás minőségének optimalizálása érdekében a gyártó fókuszra, 2D erősítésre, képszelességre és mélységre vonatkozó ajánlásait alkalmaztuk. A szívfrekvenciát (HR, bpm) az EKG monitorizálásból számítottuk oly módon, hogy öt másodpercre jutó szív ciklusokat megszámláltuk és ebből kalkuláltuk az egy percre vonatkoztatott átlagfrekvenciát. A falvastagságot és a BK átmérőket M-módban, a papilláris izmok középső szintjén, PSLAX és PSAX nézetekből, a bal pitvari maximális átmérőt (mm), az aorta gyök átmérőt (mm) szintén M-módú felvételekből mértük. A végdiasztolés átmérőt (EDD; mm) és a végszisztolés átmérőt (ESD; mm), valamint az elülső és hátsó LV-falvastagságot (LVAWd, LVAWs, illetve LVPWd, LVPWs; mm) és a kamrák közötti szeptum vastagságát (IVS; mm) a PSLAX M-módú felvételeken az endo- és epikardiális határok manuális jelölésével határoztuk meg. A BK térfogatát diasztolében és szisztolében (EDV, illetve ESV; μ L) a szoftver a következőképpen számította ki: $(7,0/(2,4+EDD))^3 \cdot EDD^3$, illetve $(7,0/(2,4+ESD))^3 \cdot ESD^3$. A BKEF (%) $100 \cdot (EDV-ESV)/EDV$ érték szerint mértük, frakcionált rövidülést (FS; %) pedig a következő képlettel számoltuk: $100 \cdot (EDD-ESV)/EDD$. A pulzustérfogatot (μ L) az EDV-ESV különbségeként határoztuk meg, a CO-t (ml/perc) pedig az SV és HR szorzatának megfelelően becsültük. Az endokardiális falösszehúzódnak kinetikájának mérésére az LVPW falán mért M-mód képre illesztettünk egy egyenest és ebből számítottuk a meredekségnek megfelelően a sebességet (MVel; mm/s).

A diasztolés funkciót pulzatilis hullámú dopplerrel (PWD) és szöveti doppler képalkotással (TDI) értékeltük apikális 4 kamrai nézetekből a mitrális billentyű, illetve a szeptális anulusz magasságában. A PWD segítségével mértük a transzmitrális korai (MV E; mm/s) és késői pitvari (MV A; mm/s) áramlási csúcssebességet, az MV E/A arányt és az E-hullám lassulási idejét (DecT; ms). Meghatároztuk az izovolumetrikus összehúzódnak időt (IVCT; ms), a szisztolés ejekciós időt (ms) és az izovolumetrikus relaxációs időt (IVRT; ms) a BK-i üregben, ahol mind a mitrális beáramlás, mind a BK-i kiáramlás láthatóvá vált. A miokardiális teljesítmény indexet (MPI), a Tei-indexet pedig a következőképpen határoztuk meg: $(IVRT+IVCT)/LVET(SET)$. A szív ciklus hosszát (CL; ms) az R-R távolságból határoztuk, a szisztolé időtartamát (ms) $ET+IVCT$ -nek tekintettük, míg a diasztolé idejét (DiasTdur; ms) $CL-SystDur$ -ként számoltuk és vizsgáltuk a diasztolé/szisztolé idejének arányát is. Aorta áramlási paramétereinek meghatározására is PWD módot használtuk a módosított szupraszternális (aortaív) nézetből. Az aorta sebesség-idő integrálját (Ao VTI; mm), az átlag- és csúcssebességet (Ao mean Vel, Ao peak Vel; mm/s), az átlag- és csúcsnyomásgradienst (Ao mean Grad, Ao peak Grad; mmHg) a szoftver a Doppler sugár határainak automatikus

kijelölésével számította ki. Hasonlóképpen, a tüdőartéria (PA) áramlási paramétereit PA sebesség időintegrál (PA VTI; mm), átlagos és csúcssebesség (PA mean Vel, PA peak Vel; mm/s), átlagos- és csúcsnyomásgradiens (PA mean Grad, PA peak Grad; mmHg) formájában határoztuk meg. A tüdővéna egy módosított PSLAX nézet segítségével ábrázoltuk. Megmértük a tüdővéna szisztolés (PV S; mm/s) és diasztolés (PV D; mm/s) áramlási sebességét, valamint a PV pitvari reverse áramlás (AR) csúcssebességét (PV Ar; mm/s) és időtartamát (PV ARdur; ms). A szeptális gyűrűnél szöveti Doppler-képalkotást (TDI) végeztünk a szöveti csúcssebességek értékelésére a szisztolés (s'; mm/s), valamint a korai (e'; mm/s) és a késői (a'; mm/s) beáramlás során. Ezután meghatározták az E/e' arányt. Minden egyes paraméter esetében három szív ciklus átlagolására került sor (99).

4.2.3 Strain echokardiográfia

A strain echokardiográfiát az előre felvett felvételekből offline végeztük. A strain egy szegmens kezdeti hossza és a megváltozott hossza közötti különbséggel írható le, míg a strain rate a deformáció változásának sebessége egy adott időtartam alatt. A hagyományos echokardiográfia során nagy képkockasebességű (>200 fps) B-mód felvételeket rögzítettünk, mind a PLAX és PSAX nézetből. A képeket lassított felvételen (1/8) értékeltük a reprodukálhatóság biztosítása érdekében. Az képek elemzése VevoStrain® kiterjesztéssel felszerelt VevoLAB® szoftver segítségével (ver.5.6.0; FUJIFILM VisualSonics, Amszterdam, Hollandia) történt. A szoftver a felvett videókat konfigurálható lassított ciklusokban jeleníti meg, lehetővé téve a megfelelő elemzést még akkor is, ha a szívfrekvencia magas. A képeket gondosan úgy választottuk ki, hogy a szívizom határainak megfelelő vizualizációját biztosítsuk. Az endo- és epikardiális határokat a szoftver segítségével félautomatikusan követtük, szükség esetén manuális beállítással módosítottuk, hogy az egyes körvonalak megfelelő minőségű követését elérjük. A hosszanti és radiális strain paramétereket a PLAX nézetből, míg a cirkumferenciális strain paramétereket a PSAX nézet képeiből értékeltük, a papilláris izmokat kihagyva. A kamra határait meghatároztuk, és a speckle-tracking rendszer a körvonalazott kamra melletti körkörös területeket rendelte hozzá. A szoftver algoritmus a sebességet (V; cm/s), az elmozdulást (D; mm), az alakváltozást (strain, S; %) és az alakváltozási sebességet (strain rate, SR; s⁻¹) a kijelölt pontok minden egyes helyére a meghatározott határterületet követve becsülte meg (a hosszanti és radiális strain értékeket az endokardiális határon). Az iv. danicamtiv beadása után elemeztük a radiális szisztolés csúcs- és átlagsebesség értékeket

(cm/s), a globális longitudinális strain (GLS; %), a globális cirkumfreniális strain (GCS; %), és összehasonlítottuk az egyes állatok kiindulási értékeivel (92,95,100–102).

4.2.4 Elektrokardiográfia

Az echokardiográfiás vizsgálatokkal párhuzamosan három elvezetési EKG monitorizálást és rögzítést végeztünk szubkután elhelyezett elektródák segítségével. Az EKG-felvételek értékelésére a LabChart Reader v8.1.14 szoftvert használtuk. Az értékelés során a következő paramétereket vizsgáltuk: szívfrekvencia, PQ-intervallum, QRS-idő, QT-idő, korrigált QT-intervallum, T-hullám amplitúdó. Az értékeléshez 5 egymást követő szív ciklust átlagoltunk minden egyes paraméterre vonatkozóan.

4.3 Alkalmazott gyógyszerek és anyagok

A kísérletek során használt OM-et az AdooQ BioScience-től rendeltük. A levosimendant finn kollaborációs partnerünk biztosította. Az *in vitro* kísérletekhez az egyes gyógyszereket DMSO-ban oldottuk és 10 μ M-os törzsoldatot készítettünk és -20°C-on tároltuk, majd ebből történt az egyes végkoncentrációk hígítása és a sejtek kezelése. Az *in vivo* kísérletekhez használt danicamtivot és az alkalmazáshoz szükséges oldószer (10% DMSO/90% (20% szulfobutil-éter- β -cyclodextrin (SBE- β -CD)) fiziológiai sóoldatban) elkészítéshez szükséges vivőanyagot (SBE- β -CD) a MedChemExpress-től (NJ, USA) vásároltuk.

4.4 Statisztikai elemzés

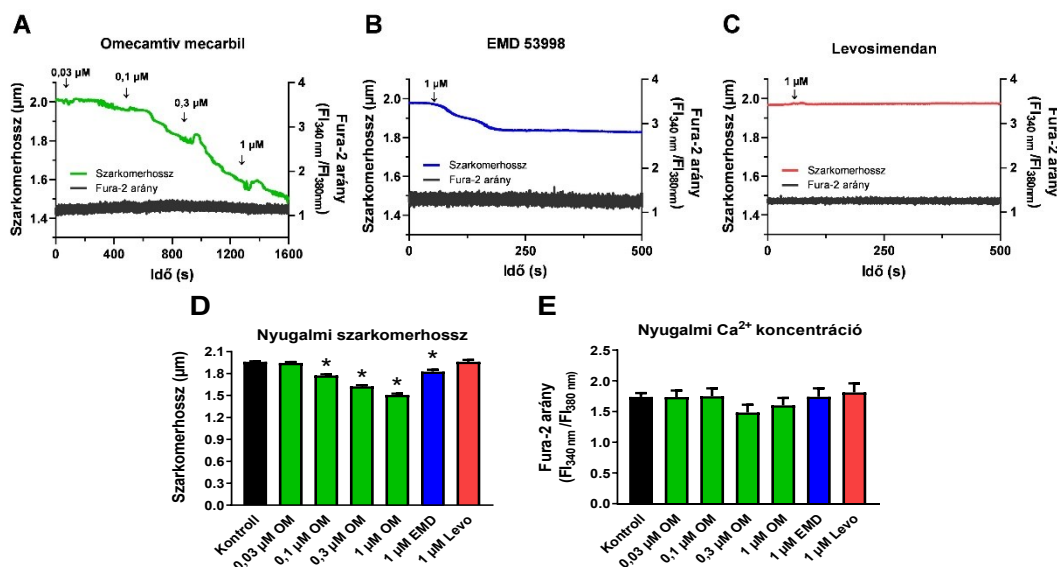
Az eredmények kiértékelése és grafikonok elkészítése a GraphPad Prism 9.0 szoftverben történt (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Az *in vitro* mérések során az egyes csoportokban a kísérletek száma 7 és 11 között változott 6 különböző szívből. A háttér fluoreszcencia-intenzitási szinteket a mérések végén egy szívizomsejt nélküli régióból nyertük és manuálisan kivontuk a fluoreszcencia-intenzitásokat. Tizennégy patkányt vizsgáltunk a danicamtiv iv. kezelése előtt és után. Minden kísérlet esetében a kapott eredményeket értékeltük a normalitás szempontjából (Kolmogorov-Smirnov normalitási teszt), majd párosított t-tesztekkel, vagy közönséges egyirányú ANOVA-val, vagy Kruskal-Wallis-teszttel értékeltük többszörös összehasonlítással, ahogyan az megfelelő volt. Az egyes adatokat átlag $\pm$ SEM értékeként adtuk meg. A statisztikai szignifikanciát $p < 0,05$ -nél fogadtuk el, a pontos p -értékeket az eredmények részben tüntettük fel.

5 Eredmények

5.1 *In vitro* kísérletek - Omecamtiv mecarbil, EMD-53998 és Levosimendan

5.1.1 Az OM és EMD csökkentette, míg a Levosimendan nem befolyásolja a nyugalmi szarkomerhosszt

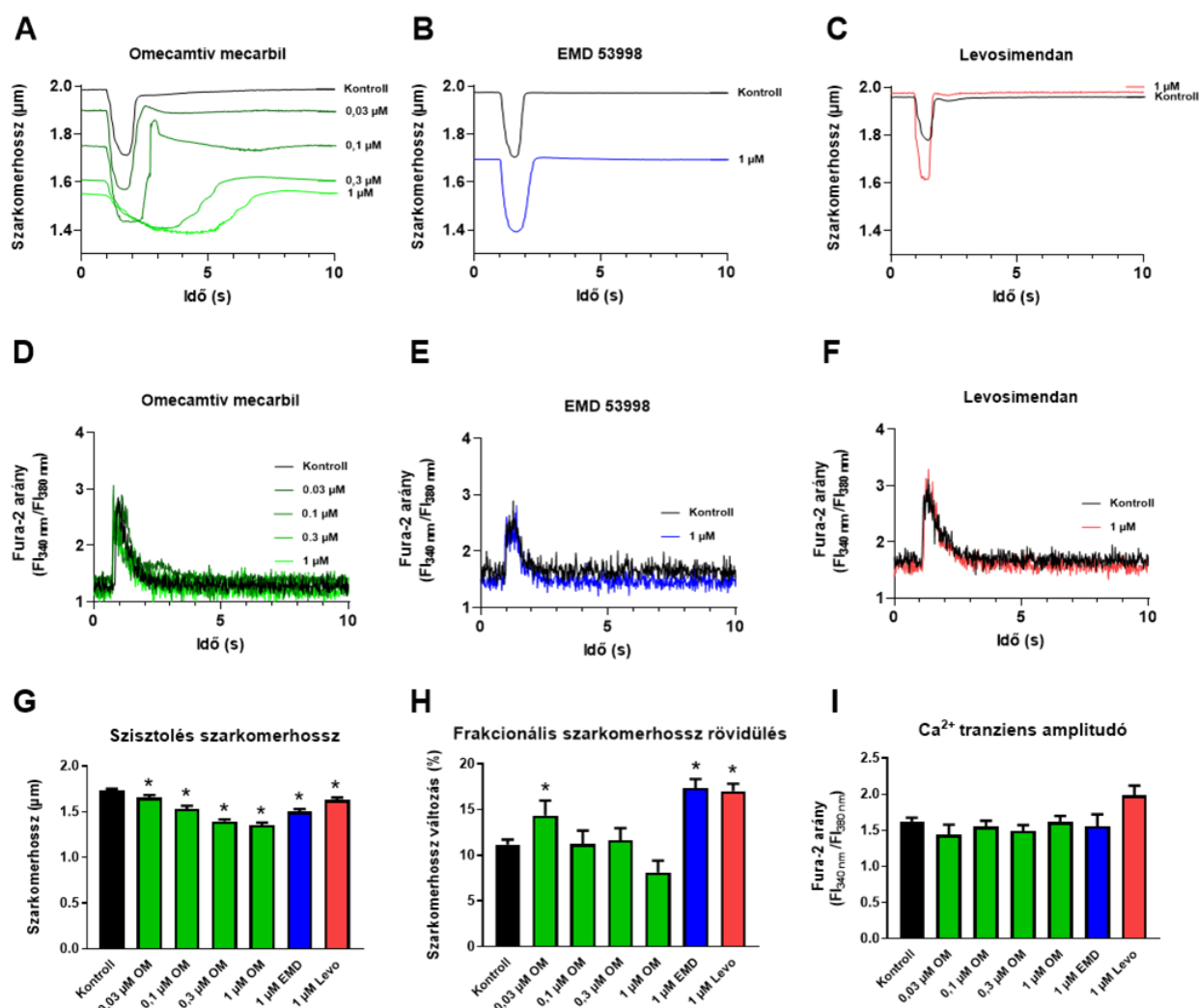
A OM kezelés hatására a szívműködés sejtek nyugalmi szarkomerhossza (RSL) dóziszfüggő módon, jelentős mértékben csökkent $1,94 \pm 0,04 \mu\text{m}$, $1,77 \pm 0,04 \mu\text{m}$, $1,62 \pm 0,05 \mu\text{m}$ és $1,50 \pm 0,05 \mu\text{m}$, $0,03 \mu\text{M}$ OM, $0,1 \mu\text{M}$ OM, $0,3 \mu\text{M}$ OM és $1 \mu\text{M}$ OM esetén vs. $1,96 \pm 0,01 \mu\text{m}$ (kontroll, az SL változások $0,1 \mu\text{M}$ -nál magasabb koncentrációk esetén $p < 0,05$, 2A és 2D ábra). Az $1 \mu\text{M}$ EMD szintén a nyugalmi SL szignifikáns csökkenését idézte elő ($1,83 \pm 0,08 \mu\text{m}$, 2B és 2D ábra, $p < 0,05$), míg a Levo nem befolyásolta azt (2C és 2D ábra). Az IC nyugalmi Ca^{2+} -koncentráció változatlan maradt mind az OM, EMD vagy Levo kezelések során (2A-C és 2E ábra).



2. ábra Az OM, az EMD és a Levo eltérő hatása a szívműködés sejtek nyugalmi szarkomerhosszára (RSL). Az OM (A) és az EMD (B) is jelentősen csökkentette a nyugalmi SL-t az izolált bal kamrai szívműködés sejteken. Az OM-et téringelés nélkül, kumulatív módon adtuk hozzá a sejtekhez az egyes koncentrációk eléréséig, míg az EMD-t és a Levo-t (C) egyetlen koncentrációban ($1 \mu\text{M}$) alkalmaztuk. Az SL-t és az intracelluláris Ca^{2+} -koncentrációt egyidejűleg rögzítettük. Az EMD, Levo és OM egyes hozzáadott dózisait a nyílak jelzik. A nyugalmi SL csökkent OM (A, D) és EMD (B, D) jelenlétében is, míg a Levo nem befolyásolta azt (C, D). Mindezen változások a Ca^{2+} koncentráció változása nélkül jöttek létre (E) (* $p < 0,05$ vs. kezelés előtt, ahol az oszlopok az átlag $\pm$ SEM értéket jelölik).

5.1.2 Az OM, EMD és Levo eltérő módon befolyásolja a bal kamrai szívműködés kinetikai paramétereit kontrakció és relaxáció során

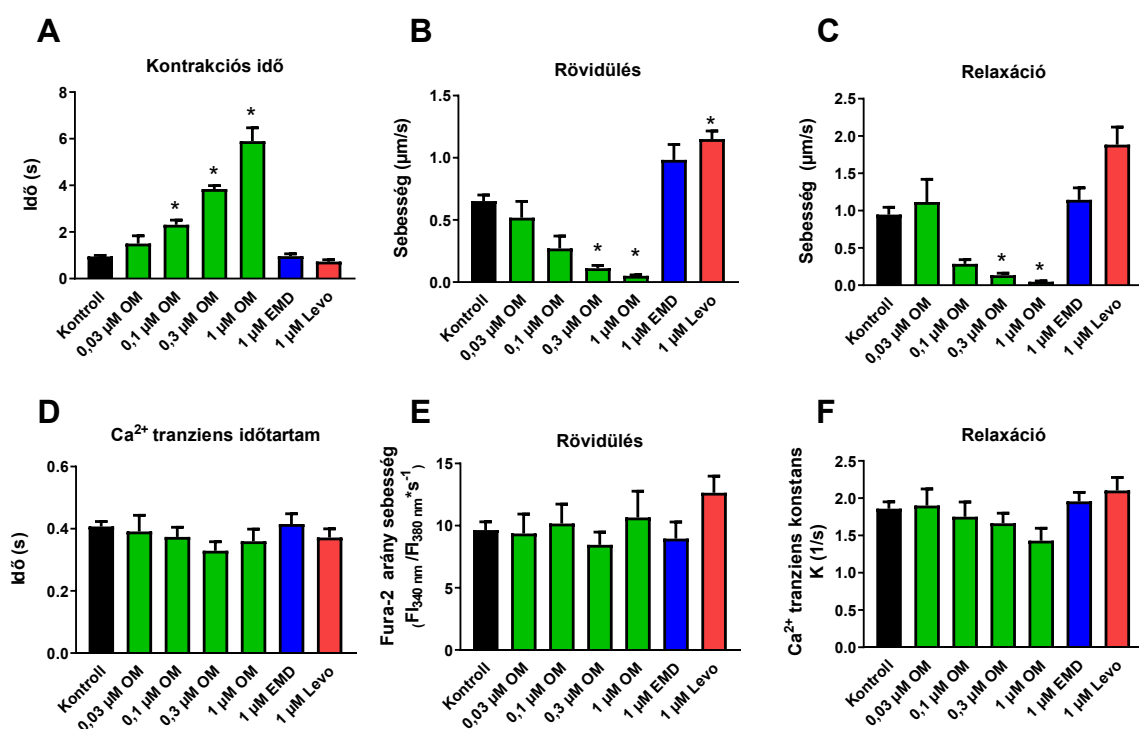
A szisztolés SL szignifikánsan csökkent 0,03 μM , 0,01 μM , 0,3 μM és 1 μM OM koncentrációk alkalmazásakor téringert követően ($1,65 \pm 0,03 \mu\text{m}$, $1,53 \pm 0,03 \mu\text{m}$, $1,39 \pm 0,02 \mu\text{m}$ és $1,34 \pm 0,03 \mu\text{m}$ vs. $1,74 \pm 0,01 \mu\text{m}$ (Kontroll), $p < 0,05$ minden esetben, 3A és 3G ábra). Az OM-hez hasonlóan az EMD ($1,51 \pm 0,03 \mu\text{m}$ -re, $p < 0,05$, 3B és 3G ábra) és Levo ($1,63 \pm 0,03 \mu\text{m}$ -re, $p < 0,05$ 3C és 3G ábra) is jelentősen csökkentette a szisztolés SL-t. Az OM növelte a frakcionális szarkomerhossz-rövidülést (FSL) 0,03 μM -os koncentrációban ($14,34 \pm 1,64\%$ vs. $11,17 \pm 0,55\%$), de magasabb gyógyszerkoncentrációknál nem volt rá jelentős hatással, míg 1 μM -os koncentrációban az EMD és a Levo is szignifikánsan növelte ezt a paramétert ($17,36 \pm 0,98\%$ (EMD) és $17,02 \pm 0,80\%$ (Levo) vs. $11,17 \pm 0,55\%$, $p < 0,05$, 3A-C, 3G és 3H ábra). A Ca^{2+} -tranziensek amplitúdóit egyik alkalmazott gyógyszer sem befolyásolta (3D-3F és 3I ábra).



3. ábra Az OM, az EMD és a Levo hatása a szarkomerhosszakra és az intracelluláris Ca^{2+} -tranziensekre téringerlést követően. Az OM-et (**A**) különböző koncentrációkban (0,03 μM , 0,1 μM , 0,3 μM , 1 μM) adtuk a kamrába. A stacionárius állapotot 5-8 percen belül elértük, majd ezt követően a kontraktilis paramétereket rögzítettük. Az EMD-t (**B**) és a Levo-t (**C**) egyetlen 1 μM -os koncentrációban alkalmaztuk. Az intracelluláris Ca^{2+} -tranzienseket (**D-F**) a kezelések előtt és után (a jelzett gyógyszerkoncentrációk mellett) követtük nyomon. A reprezentatív példák eredményei OM (**A, D**), EMD (**B, E**) vagy Levo (**C, F**) jelenlétében láthatók. A szisztolés csúcs szarkomerhosszak (**G**), a szarkomerek frakcionált rövidülésének (**H**), a Ca^{2+} -tranziensek amplitúdóinak (**I**) változásait oszlopdiagramokon mutatjuk be, ahol az oszlopok az átlag $\pm$ SEM értéket jelölik. A szignifikáns különbségeket csillagok jelzik, ha $p < 0,05$ vs. kezelés előtt.

Az OM koncentráció növekedésével a kontrakciós idő progresszív megnyúlása volt megfigyelhető ($1,50 \pm 0,33$ s, $2,31 \pm 0,21$ s, $3,85 \pm 0,15$ s és $5,89 \pm 0,57$ s, 0,03 μM , 0,1 μM , 0,3 μM és 1 μM OM koncentrációban, vs. $0,95 \pm 0,05$ s a kontroll, $\geq 0,1$ μM felett: $p < 0,05$), míg az EMD

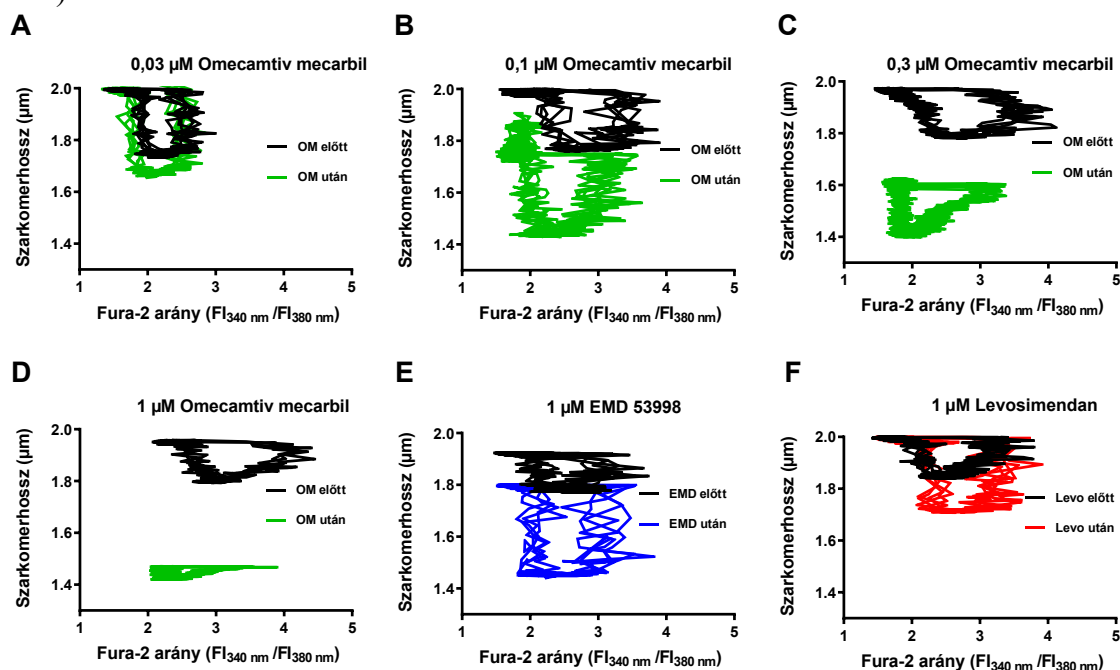
és a Levo nem befolyásolta ezt a paramétert (4A ábra). Az OM koncentráció növekedésével (0,03 μ M, 0,1 μ M, 0,3 μ M és 1 μ M) a kontraktilis válaszok, a kontrakciók ($0,51 \pm 0,13 \mu\text{m/s}$, $0,27 \pm 0,10 \mu\text{m/s}$, $0,11 \pm 0,02 \mu\text{m/s}$ és $0,05 \pm 0,01 \mu\text{m/s}$ vs. $0,65 \pm 0,05 \mu\text{m/s}$) és a relaxációk ($1,12 \pm 0,30 \mu\text{m/s}$, $0,29 \pm 0,06 \mu\text{m/s}$, $0,13 \pm 0,03 \mu\text{m/s}$, $0,05 \pm 0,01 \mu\text{m/s}$ vs. $0,95 \pm 0,10 \mu\text{m/s}$, vs. kontroll, 4B és 4C ábra) sebességének jelentős fokú lassulása volt megfigyelhető. Az OM-lal és az EMD-vel ellentétben a Levo növelte mind az összehúzódások (4B ábra), mind a relaxációk (4C ábra) kinetikáját. A Ca^{2+} -tranziensek időtartamát (4D ábra), az IC Ca^{2+} -tranziensek felfutásainak (4E ábra) és lecsengésének kinetikáját (amelyet a K sebességállandóval jellemeztünk) egyik gyógyszeres kezelés sem befolyásolta (4F ábra).



4. ábra Az OM, az EMD és a Levo hatása a szívizomsejtek összehúzódásának és relaxációjának kinetikájára. Az összehúzódások időtartama (A) fokozatosan hosszabbodott az OM koncentráció növekedésével, de változatlan maradt az EMD vagy a Levo alkalmazása során. Az összehúzódások kinetikája (B) a magasabb OM koncentrációk (0,3 μ M és 1 μ M) hatására lelassult. A relaxációs sebesség szintén nagymértékben csökkent a magas OM koncentrációk esetén (C). Az intracelluláris Ca^{2+} -tranziensek időtartamát (D) egyik szer sem befolyásolta. Az intracelluláris Ca^{2+} -tranziensek felfutásának kinetikája (E) nem változott a kezelések során. Az intracelluláris Ca^{2+} -tranziensek lecsengése (K sebességállandó) (F) szintén változatlan maradt a gyógyszeres kezelések során ($p < 0,05$ vs. kezelés előtt, az oszlopok az átlag $\pm$ SEM értéket jelölik).

5.1.3 Az OM egyedi módon változtatja meg a Ca^{2+} -szarkomerhossz összefüggést

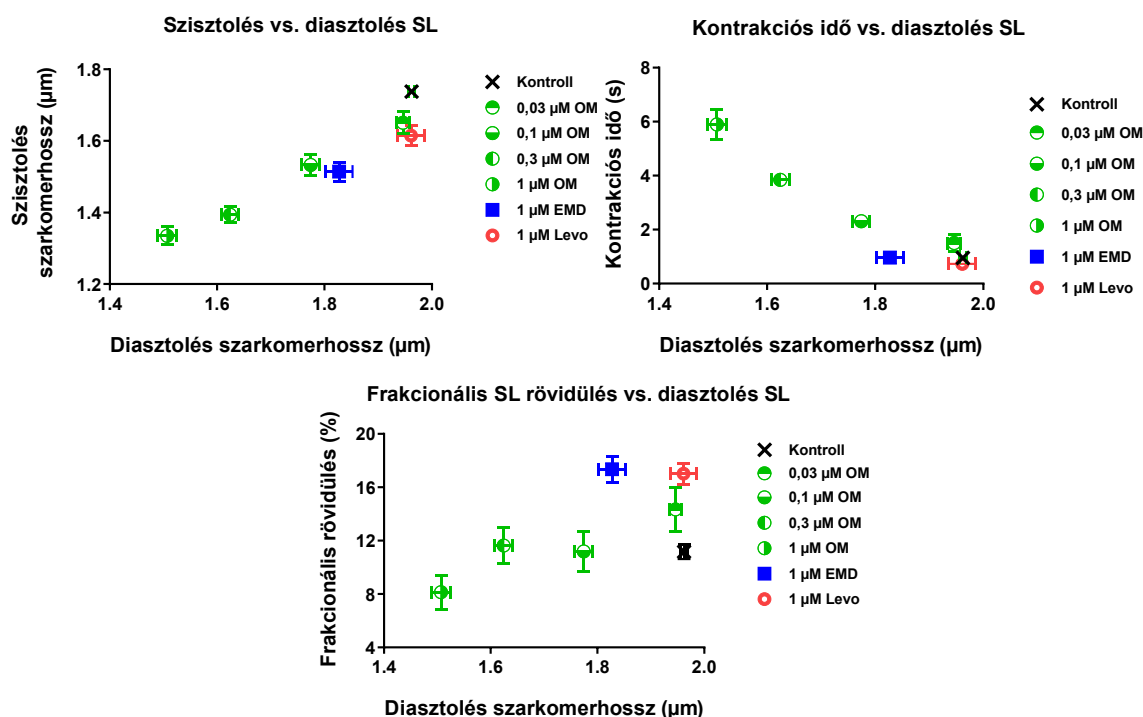
A kontraktilis válaszok és az IC Ca^{2+} -tranziensek közötti kapcsolat további jellemzése érdekében a SL-t az IC Ca^{2+} -koncentráció függvényében ábrázoltuk (5. ábra). Ezek a Ca^{2+} -SL összefüggések nem különböztek alacsony koncentrációjú ($0,03 \mu\text{M}$) OM kezelés előtt és után (4A ábra). A $0,1 \mu\text{M}$, $0,3 \mu\text{M}$ vagy $1 \mu\text{M}$ OM alkalmazását követően azonban a hurokdiagrammok jelentősen és fokozatosan lefelé tolódtak, ami arra utal, hogy a Ca^{2+} -érzékenyítő hatás mind a szisztolés, mind a diasztolés IC Ca^{2+} -koncentrációnál jelen van (5B, 5C és 5D ábra). $1 \mu\text{M}$ EMD jelenlétében a Ca^{2+} -SL összefüggés hasonló volt, mint a $0,1 \mu\text{M}$ OM alkalmazása során (5E ábra). A Ca^{2+} -SL kapcsolat a Levo jelenlétében a rövidebb szisztolés SL-ak felé tolódott, ami a szer szisztolé során kiváltott Ca^{2+} -érzékenyítő hatására utal (5F ábra).



5.ábra Az intracelluláris (IC) Ca^{2+} és a szarkomerhossz (SL) összefüggések változásai OM, EMD vagy Levo kezelés hatására. Az SL-értékeket az IC Ca^{2+} -koncentráció függvényében ábrázoltuk. Minden panel esetében négy egymást követő szív ciklus látható kezelés előtt és után. Téringerlés hatására az IC Ca^{2+} -koncentráció gyors növekedése volt megfigyelhető, amelyet összehúzódnás követett (SL csökkenése). Ezt követően az IC Ca^{2+} a diasztolés (alacsony) szintre állt vissza, amit relaxáció követett (SL növekedése). A Ca^{2+} -SL összefüggések az OM koncentráció növekedésével fokozatosan lefelé tolódtak (A-D), ami a teljes szív ciklus alatti Ca^{2+} -érzékenyítő hatásra utal. Az EMD által kiváltott Ca^{2+} -érzékenység hasonló volt a $0,1 \mu\text{M}$ OM által kiváltottnak (E). A Levo nem változtatta meg a diasztolés SL-t, de fokozta az SL csökkenését a szisztolé során (F).

5.1.4 A diasztolés és szisztolés szarkomerdinamika kölcsönhatásainak vizsgálata

A három szer különböző hatásmechanizmusainak szemléltetése érdekében a szisztolés válaszok paramétereit az OM, EMD vagy Levo kezelések során a megfelelő diasztolés SL függvényében fejeztük ki. Ez a megközelítés igazolta az OM és az EMD hatásai közötti hasonlóságokat, különösen, amikor a diasztolés és a szisztolés SL (6A ábra), vagy az összehúzóási időtartamok (6B ábra) közötti összefüggéseket elemeztük. A diasztolés SL-FSL összefüggések ugyanakkor az OM és az EMD hatásmechanizmusa közötti különbségre hívták fel a figyelmet (6C ábra). A Levo mellett változatlan diasztolés SL a szer OM-tól vagy EMD-től eltérő Ca^{2+} -érzékenyítő hatására utal (6A-C ábra).

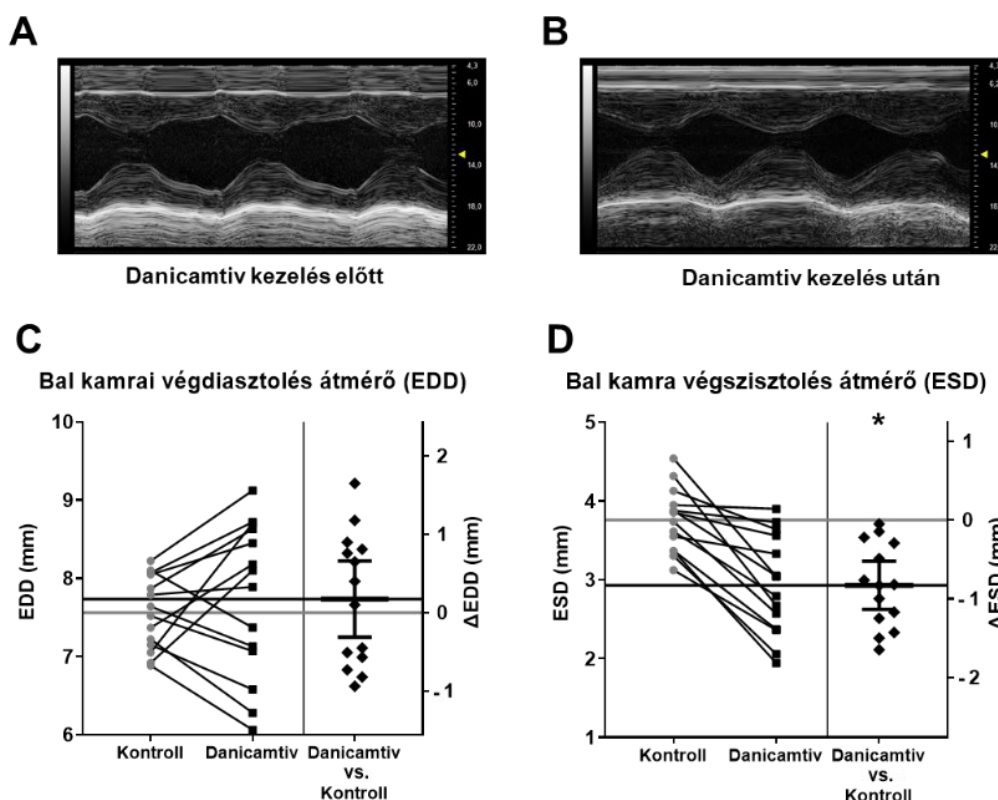


6. ábra A szisztolés paraméterek és a diasztolés szarkomerhossz (SL) összefüggései. Mind a szisztolés, mind a diasztolés SL értékek csökkentek az OM koncentráció növekedésével és az EMD hatására, azonban a Levo csak a szisztolés értéket befolyásolta (A). A kontrakciók időtartama nőtt az OM koncentráció növekedésével és az EMD kezelést követően, de nem változott a Levo alkalmazása után (B). A frakcionális szarkomer rövidülés nem változott, a diasztolés SL csökkent OM kezelést követően, azonban EMD és Levo hatására nőtt (C).

5.2 *In vivo* kísérletek - Danicamtiv

5.2.1 A danicamtiv csökkenti a végszisztolés átmérőt, de nem befolyásolja a végdiasztolés átmérőt

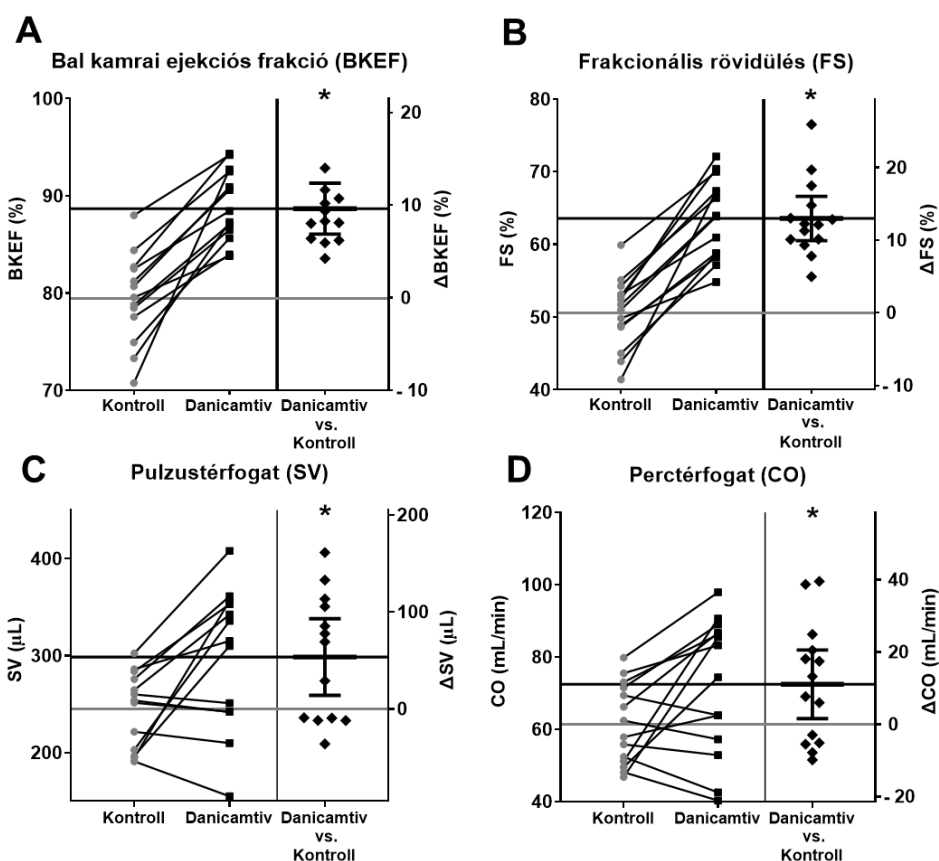
A danicamtiv miokardiális funkcióra kifejtett hatásait echokardiográfiával követtük nyomon altatott patkányokban (7A-D ábra). 2 mg/kg danicamtiv iv. beadása után a BK-i ESD jelentős csökkenését ($2,93 \pm 0,17$ mm vs. $3,76 \pm 0,11$ mm, $p < 0,001$, 7D) tapasztaltuk, azonban a BK-i EDD nem változott ($7,56 \pm 0,12$ mm vs. $7,74 \pm 0,26$ mm, $p = 0,45$) (reprezentatív M-mód ábrák: 7A és B).



7. ábra A danicamtiv hatása az bal kamrai (BK) méretekre a szív ciklusok során. Patkány BK-ról készült parasternalis hossztengetelyi metszet (PLAX) reprezentatív M-módú echokardiográfiai felvételei az iv. danicamtiv kezelés előtt és után (A, B). A danicamtiv hatására az EDD nem változott, de az ESD jelentősen csökkent (C, D). Az ábra jobb oldalán az egyéni különbségek láthatók. A középső vízszintes vonal jelzi a különbségek átlagát, míg az ezzel egybeeső vékonyabb fekete vonal (ezen, és a többi hasonló grafikonon) a danicamtiv utáni mérések átlagát mutatja. A másik szürke vonal a kezelés előtti mérések átlagát mutatja. Az ábra jobb oldalán a függőleges vonal és a két rövidebb vízszintes vonal a 95%-os konfidencia intervallumot jelzi, mely, ha nem érinti a 0 értéket, akkor statisztikailag szignifikáns különbséget jelez.

5.2.2 A danicamtiv javítja a bal kamrai kontraktilitást

A releváns BK-i kontraktilis paraméterek, beleértve az BKEF-t ($89,36 \pm 0,99\%$ vs. $79,76 \pm 1,24\%$, $p < 0,001$), a FS-t ($63,57 \pm 1,47\%$ vs. $50,58 \pm 1,30\%$, $p < 0,001$) és a SV-t ($290,56 \pm 20,26 \mu\text{l}$ vs. $243,89 \pm 10,07 \mu\text{l}$, $p = 0,012$) szignifikánsan javultak a danicamtiv kezelést követően (8A-C ábra). Emellett a CO is jelentősen nőtt ($72,45 \pm 5,04 \text{ ml/perc}$ vs. $61,40 \pm 2,99 \text{ ml/perc}$, $p = 0,026$) (8D ábra), ami alátámasztja a gyógyszerjelölt pozitív inotróp hatását.

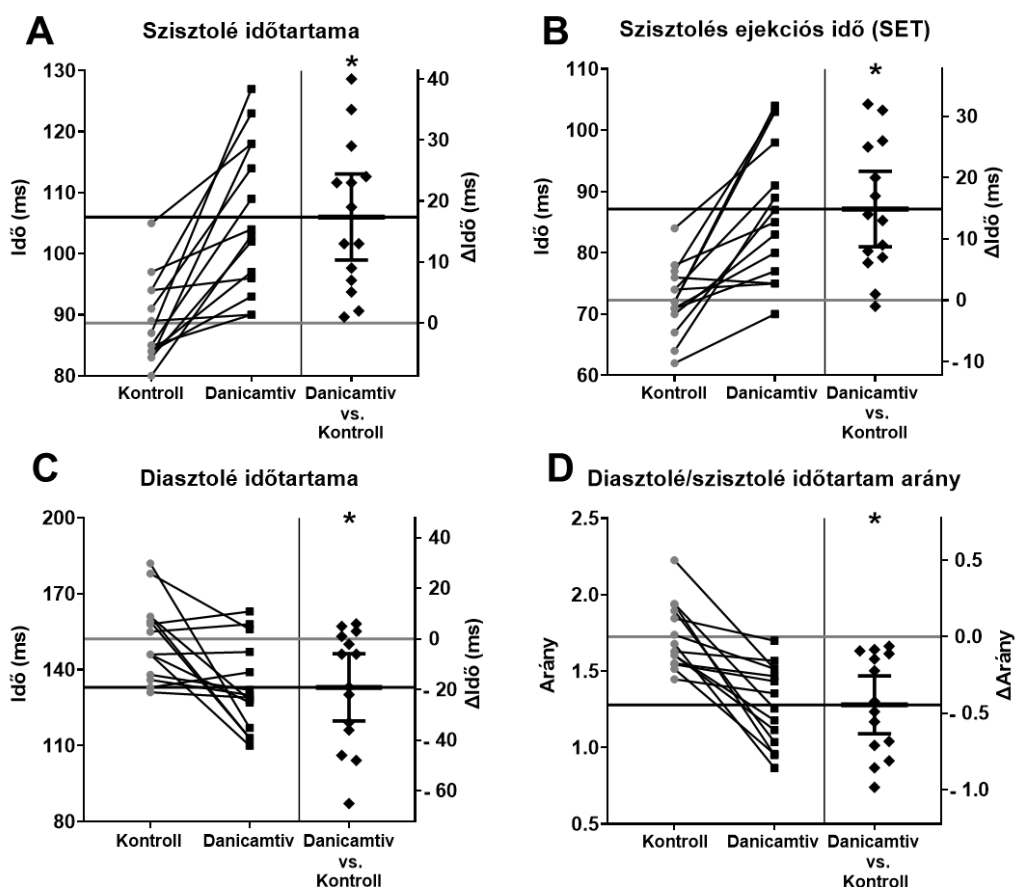


8. ábra A danicamtiv javítja a bal kamra szisztolés funkcióját és hemodinamikai paramétereit (A-D) A danicamtiv alkalmazásakor a kiindulási értékektől való szignifikáns különbségeket csillagok jelzik. (A panelek felépítése megegyezik az 7C-D ábrán szereplőkkel).

5.2.3 A diasztolé és szisztolé időtartama megváltozik danicamtiv hatására

A danicamtiv szív ciklus különböző időtartamaira kifejtett hatását is megvizsgáltuk, mely során mind a szisztolé időtartama ($106,00 \pm 3,30 \text{ ms}$ vs. $88,64 \pm 1,83 \text{ ms}$, $p = 0,0001$) (9A ábra), mind a SET szignifikáns megnyúlását tapasztaltuk ($87,14 \pm 3,05 \text{ ms}$ vs. $72,28 \pm 1,53 \text{ ms}$, $p < 0,001$) (9B ábra) Az echokardiográfiával mért paraméterekből kalkulált diasztolés időtartam szignifikánsan csökkent ($133,00 \pm 4,66 \text{ ms}$ vs. $152,20 \pm 4,19 \text{ ms}$, $p = 0,008$) (9C ábra), amit a

diasztolés és a szisztolés időtartam arányának jelentős csökkenése kísért ($1,28 \pm 0,07$ vs. $1,73 \pm 0,06$, $p < 0,001$, 9D ábra).

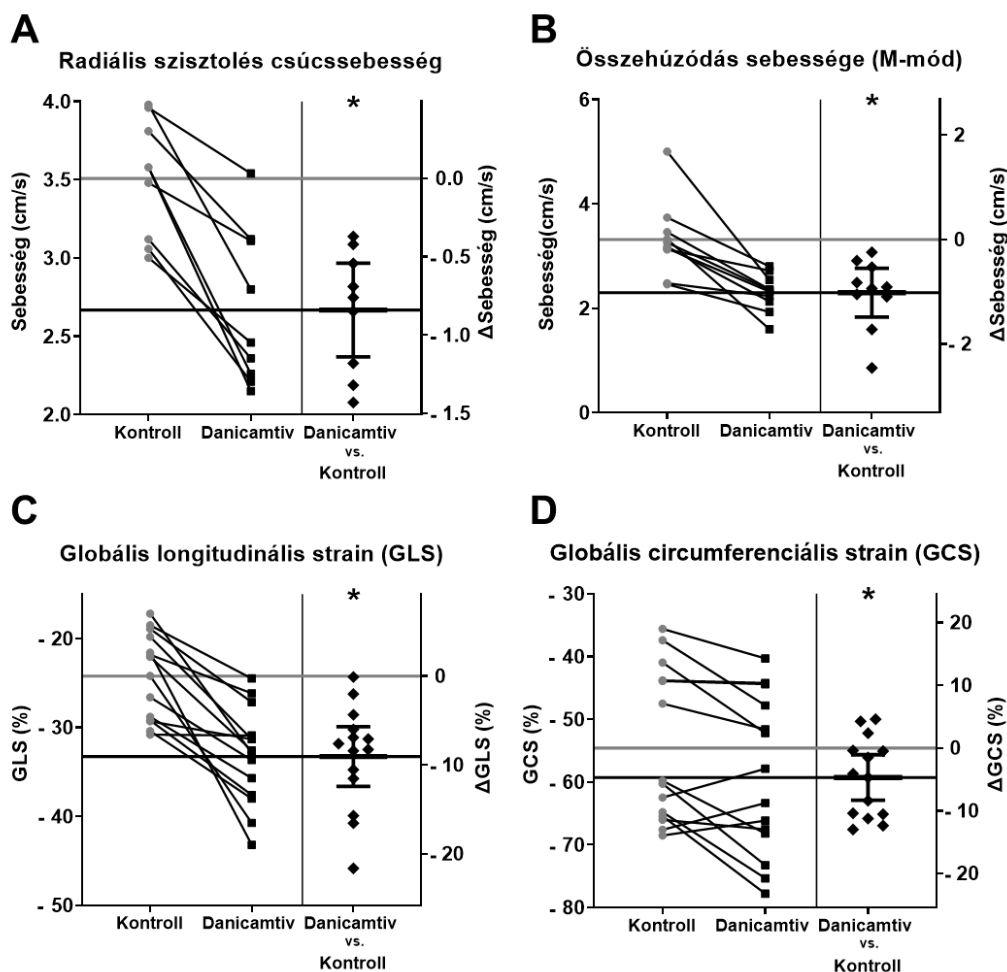


9. ábra A danicamtiv növelte a szisztolé és csökkentette a diasztolé időtartamát. Továbbá elnyújtotta szisztolés ejekciós időt, a diasztolés és szisztolé arányát felborította (**A-D**). A danicamtiv alkalmazásakor a kiindulási értékektől való szignifikáns különbségeket csillagok jelzik (A panelek felépítése megegyezik az 7C-D ábrákkal).

5.2.4 A kontrakció kinetikája jelentősen lassul, azonban a bal kamrai strain paraméterek javulnak a danicamtiv kezelést követően

A danicamtiv hatását a szívizomösszehúzódás dinamikájára strain echokardiográfia segítségével részletesebben is megvizsgáltuk. A BK-i radiális szisztolés csúcsebesség ($2,67 \pm 0,17$ cm/s vs. $3,50 \pm 0,13$ cm/s, $p < 0,001$, $n=9$, 10A ábra) és az összehúzódási sebesség (M-módban mért meredekség) ($2,30 \pm 0,11$ cm/s vs. $3,32 \pm 0,23$ cm/s, $p=0,008$, $n=10$, 10B ábra) szignifikáns csökkenése volt megfigyelhető. A danicamtiv kezelés hatására azonban, mind a globális longitudinális strain ($-33,27 \pm 1,45\%$ vs. $-24,22 \pm 1,30\%$, $p < 0,001$, 10C ábra), mind a

globális cirkumferenciális strain $(-59,29 \pm 3,36\%$ vs. $-54,58 \pm 3,28\%$, $p=0,015$, 10D ábra) paraméterek szignifikánsan csökkentek, ami az BK szisztolés funkció javulására utal. A danicamtiv kezelések során kialakult aorta- vagy pulmonális artériás átlag- és csúcssebességekben, illetve átlag- és csúcsgradiensekben nem volt szignifikáns változás (1. táblázat).



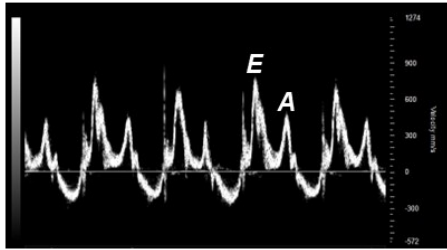
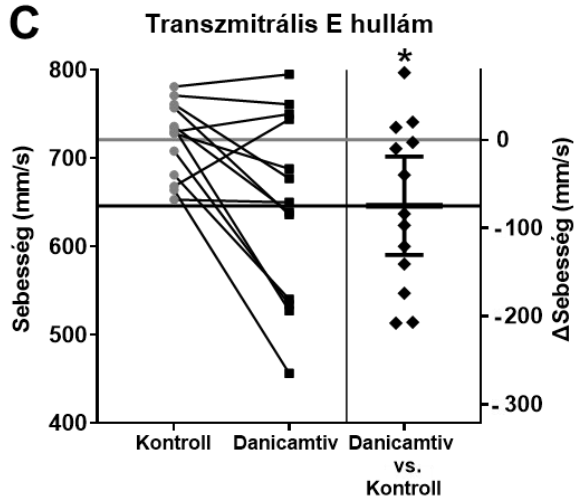
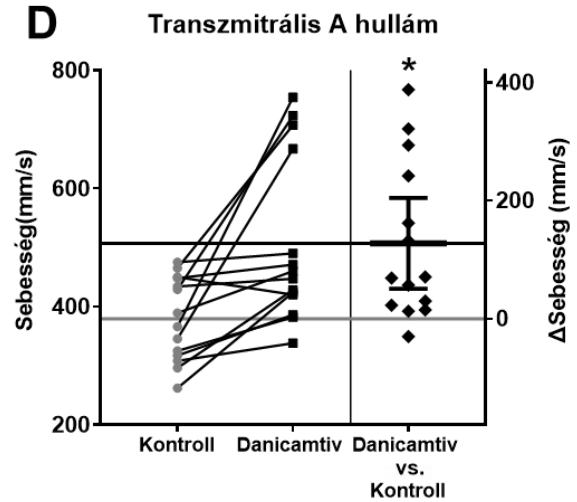
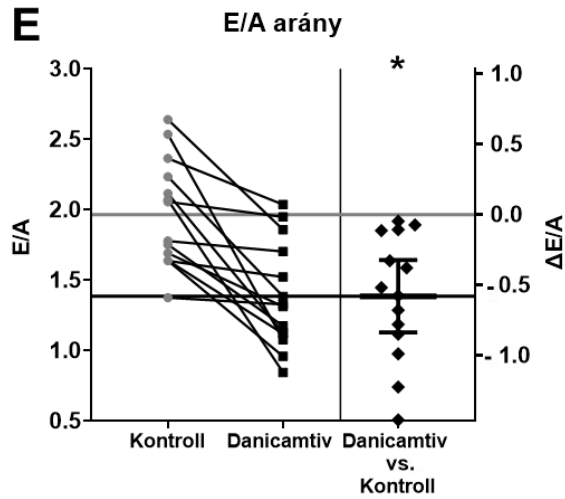
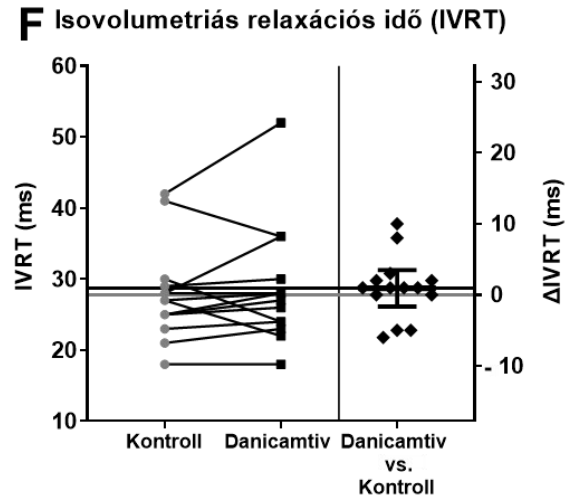
10. ábra Az echokardiográfiával mérhető bal kamrai összehúzódást jellemző kinetikai, illetve strain echokardiográfiás paraméterek. (A panelek felépítése megegyezik a **7C-D** ábrákkal).

Paraméterek	Kontroll (n = 14)	Danicamtiv (n = 14)	P érték (Kontroll vs. Danicamtiv)
Echokardiográfia			
BK térfogat— szisztolé (μL)	61,53 ± 423	35,7 ± 4,77	<0,001
BK térfogat—diasztolé (μL)	305,4 ± 11,2	326,1 ± 23,9	0,327
BK anterior falvastagság—szisztolé (mm)	3,17 ± 0,09	3,49 ± 0,14	0,034
BK anterior falvastagság—diasztolé (mm)	1,76 ± 0,22	1,65 ± 0,26	0,171
BK posterior falvastagság—szisztolé (mm)	3,24 ± 0,12	3,69 ± 0,09	0,003
BK posterior falvastagság—diasztolé (mm)	1,93 ± 0,08	1,92 ± 0,08	0,867
Aorta szisztolés csúcssebesség (mm/s)	899,3 ± 35,7	936,7 ± 41,2	0,276
Aorta szisztolés átlagsebesség (mm/s)	547,8 ± 29,8	511,1 ± 35,4	0,213
Aorta csúcsnyomásgárdiens (mmHg)	3,30 ± 0,26	3,59 ± 0,31	0,248
Aorta átlagnyomásrádiens (mmHg)	1,30 ± 0,15	1,11 ± 0,17	0,178
Pulmonális véna pitvari reverz áramlási sebesség (mm/s)	136,7 ± 11,4	201,1 ± 24,9	0,008
Pulmonális véna pitvari reverz áramlás időtartama (ms)	20,27 ± 0,77	28,10 ± 2,24	0,004
Mitrális E hullám lassulási idő (ms)	57,57 ± 2,53	51,09 ± 2,63	0,134
Mitrális billentyű szeptális e' (mm/s)	40,47 ± 2,44	36,36 ± 2,36	0,051
Mitrális billentyű szeptális a' (mm/s)	35,21 ± 1,74	42,24 ± 2,27	0,070
Mitrális billentyű szeptális e'/a'	1,21 ± 0,11	0,874 ± 0,10	0,014
Tei index	0,60 ± 0,04	0,50 ± 0,03	<0,001
E/e' arány	18,79 ± 1,31	19,53 ± 1,69	0,549
Izovolumetrikus összehúzóási idő (ms)	14,50 ± 0,53	14,50 ± 0,91	0,999
Izovolumetrikus relaxációs idő (ms)	27,79 ± 1,77	28,71 ± 2,22	0,450
Elektrokardiográfia			
Szívfrekvencia (bpm)	251 ± 15	249 ± 14	0,715
PQ intervallum (ms)	48 ± 4	51 ± 4	0,245
QRS időtartam (ms)	17 ± 3	17 ± 2	0,869
QT intervallum (ms)	42 ± 2	42 ± 1	0,577
T hullám amplitúdó (mV)	0,13 ± 0,02	0,13 ± 0,03	0,477

1. táblázat További echokardioráfiával és elektrokardiográfiával mért eredmények.

5.2.5 A danicamtiv diasztolés diszfunkciót okoz

A danicamtiv hatására a korai (E) transzmitrális beáramlási sebesség szignifikánsan csökkent ($645,92 \pm 29,17$ mm/s vs. $720,92 \pm 11,87$ mm/s, $p=0,013$), a késői (A) transzmitrális beáramlási sebesség pedig jelentősen növekedett ($506,93 \pm 37,81$ mm/s vs. $379,24 \pm 19,00$ mm/s, $p=0,003$, 11A-D ábra). Az E/A arány ennek megfelelően jelentősen csökkent ($1,97 \pm 0,10$ vs. $1,38 \pm 0,10$, $p=0,0003$, 11E ábra), amely a BK-i töltőnyomás emelkedését jelezheti. A szöveti doppler (TDI) sebességek (azaz a mitrális billentyű szeptumának korai (a') és késői (e') szöveti sebességei) a mitrális E és A hullám sebességéhez hasonlóan változtak (1. táblázat). A TDI e'/a' arány változásai tovább erősítik a danicamtiv beadásakor megváltozott mitrális beáramlási mintázatot. Mindazonáltal az izovolumetriás relaxációs idő (IVRT) ezzel egy időben változatlan maradt. Ezen túlmenően a pulmonális véna pitvari reverz áramlási sebességének ($201,10 \pm 24,85$ mm/s vs. $136,70 \pm 11,35$ mm/s, $p=0,008$) és az áramlás időtartamának ($28,10 \pm 2,24$ ms vs. $20,27 \pm 0,77$ ms, $p=0,004$) jelentős növekedése volt megfigyelhető (1. táblázat), ami a BK diasztolés funkciójának romlását és a bal pitvar kontrakció erősségének fokozódását jelezheti.

A**B****C****D****E****F**

11. ábra A danicamtiv hatása a diasztolés funkcióra. A mitrális billentyűnél pulzatilis hullámú Doppler képalkotást használtunk a korai és késői pitvari beáramlás arányának (E/A) meghatározására (representatív egyéni felvételek az **A** panelen a kontroll és a danicamtiv kezelést követően az **B** panelen). A danicamtiv negatívan befolyásolta a patkányok BK-i diasztolés funkcióját (**C-F**). (A panelek felépítése megegyezik az **7C-D** ábra megfelelő részeivel).

6 Megbeszélés

6.1 Az omecamtiv mecarbil pozitív inotróp és diasztolés diszfunkciót jósló hatása *in vitro*

Az általunk végzett *in vitro* vizsgálatban enzimatikusan izolált, intakt membránrendszerrel rendelkező kutyából származó szívizomsejteken számos hasonlóságot és jelentős különbségeket azonosítottunk az OM, az EMD és a Levo kontraktilis funkcióra kifejtett hatásai között. Eredményeink alapján az OM pozitív inotróp hatásának hátterében elsősorban az összehúzódások idejének megnyúlása, nem pedig a kinetikai paraméterek gyorsulása, vagy a frakcionált szarkomerhossz-rövidülés növekedése áll.

Kutatásunk során megállapítottuk, hogy az OM, az EMD és a Levo az IC Ca^{2+} -tranziensek jelentős változásának hiányában is markáns változásokat idéz elő a szívizomsejtek összehúzódásaiban és relaxációiban, ami mind a három vegyület esetében arra enged következtetni, hogy valamilyen fokban növelik a szívizomsejteknek a Ca^{2+} -érzékenységet. Ugyanakkor a Ca^{2+} -érzékenység fokozódásához vezető mechanizmusok az OM, az EMD és a Levo esetében bizonyos fokban különbözőek, és ennek megfelelően eltérő típusú kontraktilis válaszokat eredményeztek. Mivel a Levo és az EMD is gátolja a PDE3-at, a változatlan IC Ca^{2+} -szint ezen szerek jelenlétében potenciálisan azzal magyarázható, hogy ezek a szerek az általunk alkalmazott koncentrációkban a többi (PDE3-on kívüli) PDE izoformát kutya szívizomsejtekben nem gátolják (71,103,104).

Az OM alacsony (diasztolés) IC Ca^{2+} -koncentráció esetén a szívizomsejtek SL-csökkenését idézte elő téringerlés hiányában is. A SL-csökkenés mértéke hasonló volt téringerlést követően a stimulált szívizomsejtekben mérhető diasztolés SL-hoz, ami arra utal, hogy az aktin-miozin kölcsönhatás OM-függő aktiválásához nem volt szükség Ca^{2+} -ra. Ezek az eredmények összhangban vannak a nyúlból származó szívizomsejtek bazális miozin ATPáz aktivitásának növekedésével OM-kezelést követően (77), valamint a patkányokból nyert permeabilizált szívizomsejteknek diasztolés Ca^{2+} -szintek mellett létrejövő izometrikus erejének a fokozódásával (105). Megjegyzendő, hogy a szívizomsejtek passzív feszülésének növekedése jelentősen hozzájárul a BK-i diasztolés diszfunkció kialakulásához HFpEF-ben szenvedő betegekben (106). Az OM-hez hasonlóan az EMD is csökkentette a nyugalmi SL-t, ami a két, miozinhoz kötődő, azt szelektíven befolyásoló szer esetében hasonlóságot mutat, míg a vékony filamentumra szelektív Levo esetében eltér. Vizsgáltunkból az is tisztán látható, hogy a diasztolés és szisztolés SL-ok, valamint a kontrakciós időtartamok csökkenése szoros

összefüggést mutat a növekvő OM koncentrációkkal. A diasztolés SL csökkenése felelős azért, hogy magasabb OM koncentrációk esetében a frakcionált szarkomerhossz-rövidülés nem mutatott jelentős növekedést annak ellenére, hogy a szisztolés szarkomerhosszak jelentősen csökkentek, tehát eredményeink alapján a frakcionált szarkomerhossz-rövidülés növekedését az OM által kiváltott nyugalmi SL-csökkenés korlátozhatja magasabb OM koncentrációknál (105).

Az általunk alkalmazott OM koncentráció tartományában (0,01-1 μM), mely megfelelt a klinikai tanulmányokban alkalmazott OM-plazmaszintekkel, a nyugalmi SL csökkenését tapasztaltuk (87,107,108). Az OM multicentrikus, placebo kontrolllos, III. fázis klinikai vizsgálatában (GALACTIC-HF) a gyógyszer plazma szintje szerinti dózistitrálási stratégiát alkalmaztak. A cél a legalább 200 ng/ml-es (0,5 μM) plazmakoncentráció elérése és az 1000 ng/ml (2,5 μM) feletti koncentráció elkerülése volt. Fontos megjegyezni, hogy korábbi kísérletek során a >1200 ng/ml-es (3 μM) OM koncentráció (háromszor magasabb, mint az *in vitro* kísérleteinkben alkalmazott maximális koncentráció) esetén a szisztolés időtartam jelentős megnyúlását tapasztalták, mely diasztolé során a koronária keringés romlásához, potenciálisan miokardiális iszkémia kialakulásához vezethet (74,109). Az OM állatkísérletekben és humán tanulmányokban egyaránt a SET növekedését okozta (81,87,107,108). Az első emberen végzett, dóziseszkalációs vizsgálatban az OM dóziszfüggő módon növelte a SET-t, a SV-t, FS-t és a BKEF-t is. A SET megnyújtása a gyógyszer egyik legjelentősebb hatása: a szer alacsony citoplazmatikus Ca^{2+} -koncentráció mellett is fenntartja a kontrakciót. Annak ellenére, hogy az *in vitro* erő kifejtés kinetikája lassult, az OM *in vivo* nem befolyásolta az időegység alatt létrejövő nyomásváltozás maximumát ($\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$), ami arra utal, hogy az OM farmakokinetikai tulajdonságai *in vitro* és *in vivo* eltérőek lehetnek (81).

A szívműködés összehúzóerőinek időtartama majdnem hatszorosára nőtt magas OM koncentráció mellett, ami - a vékony filamentumok inaktiválódásának késleltetése és az erősen kötődő keresztidák számának növekedése miatt - a kontraktilis rendszer elhúzóerő aktiválódására utal (110,111). Korábbi tanulmányunkban permeabilizált patkány szívműködésén megfigyeltük, hogy mind a félmaximális kontrakció eléréséhez szükséges időtartam ($t_{1/2}$), mind pedig az aktin-miozin keresztidák kinetikáját jellemző sebességi állandó (k_{tr}) jelentősen növekedett, mely - összhangban jelen megfigyeléseinkkel- szintén a miozin filamentumok csökkent *in vitro* motilitására utal (105,112,113). Összességében az OM által kiváltott Ca^{2+} -érzékenység-fokozódás hozzájárulhat az erősebb, lassabb és elhúzóerő összehúzóerőkhöz.

Fontos megemlíteni, hogy az OM által kiváltott kontrakciós időtartam-növekedés nem volt megfigyelhető az EMD alkalmazása során, mely a szerek miozin molekulán lévő eltérő kötőhelyeikkel magyarázható. Az OM kötőhelye a miozin S1 doménjén valószínűleg az aktin-kötő felület és a nukleotid-kötő zseb közelében lévő hasadéokban található. Ez a hely feltehetően ideális a szívizomzat miozin motorjának mind az enzimatikus, mind a mechanikai tulajdonságainak allosztérikus modulációjához. Habár EMD kötőhelye nem azonos az OM miozin S1 doménen lévő kötőhelyével, ennek ellenére az EMD adagolása szintén képes növelni a miozin ATPáz aktivitását (70,72,73,79).

Jelen vizsgálatban az OM hatására az intakt szívizomsejtek relaxációja jelentősen csökkent, különösen magasabb (0,3 és 1 μM) koncentrációknál, az EMD vagy a Levo ugyanakkor azt csak kismértékben befolyásolta. Ez összhangban van korábbi vizsgálatunk eredményével, mely során az OM jelentősen megnyújtotta a permeabilizált patkány szívizomsejtek relaxációját és megnövelte Ca^{2+} -független passzív erejüket ($F_{\text{passzív}}$). Szívelégtelenségben a szívizomsejtek Ca^{2+} -homeosztázisának zavara elsősorban a SR megváltozott működésére vezethető vissza: a SERCA csökkent aktivitásának következtében csökken a citoplazmatikus Ca^{2+} -visszavétel (53). Eredményeink alapján a relaxáció már alacsony OM koncentrációknál (0,1-0,3 μM) is károsodott, ez a hatás magas OM koncentrációnál (1 μM) még kifejezettebb. Szívelégtelenségben az OM-által kiváltott diasztolés diszfunkciót az emelkedett nyugalmi IC Ca^{2+} -szint potenciálisan súlyosbíthatja. A diasztolés funkció romlását - amelyet az izovolumetrikus relaxáció időállandójának (τ) és a BK-nyomáscsökkenés sebességének (dP/dt_{max}) csökkenése tükröz - már korábban kimutatták térfogat-túlterhelés SzE modelljében patkányokban intravénás OM kezelés során (114). Ugyanakkor egészséges önkéntesekben az OM nem rontotta a diasztolés funkciót az utóbbi vizsgálatban alkalmazott koncentrációhoz hasonló plazmakoncentrációban. Az OM esetleges diasztolés diszfunkciót okozó hatását COSMIC-HF tanulmányban is vizsgálták. A post-hoc elemzés során az IVRT növekedése igazolódott az E/A arány, vagy az E-hullám változása nélkül. A GALACTIC-HF-ben a diasztolés funkciót részletesen nem vizsgálták, ez lehetővé tette volna a szer per os alkalmazása során a diasztolés funkcióban bekövetkező változások jellemzését HFrEF-ben szenvedő betegekben.

Annak ellenére, hogy az OM, az EMD és a Levo sem változtatja meg az IC Ca^{2+} -tranzienst, az egyes szerek különböző módon befolyásolták a Ca^{2+} -SL összefüggést. Az OM magas koncentrációban jelentősen csökkentette a SL-t, ezáltal diasztolés rövidüléshez és elhúzódó relaxációhoz vezetett. Az EMD szintén a nyugalmi SL csökkenését eredményezte, de

a relaxációs kinetikát nem befolyásolta. Az OM-lal és az EMD-vel ellentétben Levo kezelés során a káros hatások egyike sem volt megfigyelhető. Az OM mellett tapasztalt jelentős nyugalmi SL-csökkenés párhuzamba állítható a klinikai vizsgálatokban megfigyelt BK-i diasztolés átmérő csökkenéssel. Ez a tényező hatással lehet FS-re magas OM koncentrációknál és befolyásolhatja a BKEF meghatározását is. Az OM szívműködés nyugalmi SL-ra és relaxációs kinetikájára kifejtett káros hatásai a OM-plazmaszint rendszeres meghatározásának fontosságára és szükségességére hívják fel a figyelmet a szer klinikai alkalmazása során.

6.2 A danicamtiv szisztolés és diasztolés funkcióra kifejtett hatása *in vivo*

In vivo vizsgálataink fókuszában egy eddig kevésbé ismert, új típusú miozin-aktivátor, a danicamtiv állt. Eredményeink hozzájárulnak a szer szisztolés és diasztolés funkcióra kifejtett hatásainak pontosabb megismeréséhez, további vizsgálatok tervezéséhez, mely a hatóanyag klinikai alkalmazása szempontjából is releváns lehet.

A célzott, betegségmódosító terápiák a jelenlegi SzE irányelvekben a kardiomiopátiák kezelésére szolgáló új stratégiákként jelennek meg (10). A mavacamten nevű miozin-inhibitor a szívműködés hiperkontraktilis állapotának befolyásolásával a hipertrófiás kardiomiopátia remodellációját is mérsékelheti (115,116). A dilatatív kardiomiopátiára (DCM) azonban a mai napig nincs specifikus terápia. Ez a tény és az OM-lal szerzett tapasztalatok ösztönözték a második miozin-aktivátor, a danicamtiv kifejlesztését és a klinikai kipróbálását (89,115).

A direkt miozin-aktivátorok kötőhelye a β -miozin nehézlánc S1-doménjén található a kutya és rágcsáló szívműködésben egyaránt. Fontos megjegyezni, hogy a szívműködésben a danicamtiv (az OM-hoz hasonlóan) nincs hatással az IC Ca^{2+} -tranziensekre, ami arra utal, hogy kizárólag a fenti hatásmechanizmus felelős a kardiotonikus hatásáért. Ebből következik, hogy a danicamtiv által kiváltott kontraktilis válaszok kutyákban és patkányokban közel hasonlóak lesznek az OM-hoz (117). Mivel a modern echokardiográfiás technikák kiváló minőségű képalkotást tesznek lehetővé kisemlősökben, méréseinket patkánymodellen hajtottuk végre (118).

A HFrEF-ben lejárászó patofiziológiai folyamatok a kontraktilitás jelentős csökkenéséhez vezetnek, ami a pulzustérfogat csökkenésével jár (119). A pozitív inotróp szereket több évtizede alkalmazzák a pumpafunkció javítása érdekében, mind akut, mind krónikus HFrEF-ben (77,120,121). A hagyományos pozitív inotróp szereket hosszú távon növelik az IC Ca^{2+} -szintet, az oxigénfogyasztást és a mortalitást is (64,122,123). Ezzel szemben a direkt miozin-aktivátorok allosztérikus hatást gyakorolnak a miozin ATPáz-ra, így változatlan IC Ca^{2+}

-tranzienst esetén több aktin-miozin interakció alakulhat ki, ez a mechanizmus pedig feltehetően elkerüli a fenti mellékhatásokat.

In vivo tanulmányunkban átfogó echokardiográfiás elemzéssel kimutattuk, hogy a danicamtiv jelentős hatást gyakorol, mind a szisztolés, mind a diasztolés funkcióra patkányszívekben. A fenti adatok és a szív S1 miozinján OM és danicamtiv alkalmazásával végzett preklinikai vizsgálat eredményei arra utalnak, hogy a miozin ATPáz sebességét még diasztolés Ca^{2+} -szint mellett is növelik a direkt miozin-aktivátorok (116,124).

A BK-i kontraktilitást jellemző paraméterek közül danicamtiv hatására jelentősen javult az EF és az FS, továbbá a non-invazívan meghatározott SV, így következményesen a CO is. Ezen kedvező hatások összevethetőek az OM-lal (74). Ellentétben az OM-lal, amely humán alkalmazás során az EDD-t és az ESD-t is csökkentette (74), a danicamtiv csak az ESD-t csökkentette, az EDD-t nem befolyásolta jelentős mértékben patkányszívekben. Ezek az eredmények összhangban vannak a szívelégtelen kutyákon végzett preklinikai adatokkal, és részben egy fázis IIa klinikai vizsgálat eredményeivel is, ahol az EDD kevésbé tűnt érzékenynek a danicamtivra, mint az ESD (90). Egy nemrégiben humán mesterséges szívizomszöveten a danicamtiv és az OM hatásait összehasonlító vizsgálatban a danicamtiv hatására a szisztolés funkciót jellemző paraméterekben kifejezettebb javulás volt megfigyelhető a relaxációhoz képest (94). A megnövekedett BK-i töltőnyomást köztudottan a pitvari kontraktilis funkció növekedése kompenzálja. A danicamtiv esetében ezt a jelenséget jól tükrözte a transzmitrális A-hullám jelentős növekedése, az E-hullám, az E/A arány, valamint a szöveti dopplerrel mért e'/a' arány jelentős mértékű csökkenése.

A GALACTIC HF vizsgálatban az OM-kezelés hatására a szívfrekvencia kisméretékben csökkent, melyet a javuló kontraktilis funkció következtében létrejövő pozitív hatásokkal hoztak összefüggésbe. *In vivo* kísérleteinkben, hasonlóan az ATOMIC HF, a COSMIC-HF és a danicamtivval végzett fázis IIa vizsgálatokhoz, a szívfrekvencia nem változott. Ahogyan az OM-lal végzett nagy klinikai vizsgálatokban is igazolták, a SET növekedése a miozin-aktivátorok egyik specifikus hatása (77,124). Kísérleteink során a változatlan szívfrekvencia mellett megjelenő SET megnyúlása eredményezte a szisztolés időtartam növekedését. Ennek következtében a diasztolés időtartam rövidül, így a diasztolés és a szisztolés időtartam arányának változása potenciálisan hatással lehet a koronária perfúzióra. Az OM humán fázis II. és III. vizsgálatokban megfigyelt hatásaival ellentétben patkányszívben az izovolumetriás összehúzóási időt (IVCT) és az IVRT-t a danicamtiv nem befolyásolta. A danicamtiv fázis IIa vizsgálatában csak extrém magas dózisok (>3500 ng/ml) esetében figyelték

meg az IVRT megnyúlását (90). A SET növekedése együtt járt a miokardiális teljesítményindex (Tei-index) javulásával.

Fontos megjegyezni, hogy a strain echokardiográfiát különösen kisállatokban ritkábban alkalmazzák, bár nagyon érzékeny módszer a BK funkció változásainak kimutatására. A szívizom sebesség és a strain TDI-vel is mérhető, bár a speckle tracking 2D-strain-t jobb technikának tartják, mivel a TDI-vel ellentétben a kapott eredmények szögfüggetlenek. Általánosságban elmondható, hogy a 2D-strain segítségével nyert adatok jó korrelációt mutatnak a mágneses rezonanciás képalkotással (MRI), a szívizom deformációjának és térfogatának elemzésének arany standard módszerével (125). Vizsgálatunkban igazoltuk, hogy a danicamtiv jelentősen csökkenti a szívizom összehúzóási sebességét, amit egy 2D-strain paraméter, a radiális szisztolés csúcssebesség jelentős csökkenése is megerősített. A PLAX-ban nyert M-mód képen az összehúzás felszállószárára illesztett egyenes meredeksége is csökkent, amely szintén megerősíti, hogy a szívizomösszehúzás kinetikája lassult. Emellett úgy tűnik, hogy a 2D-strain echokardiográfia érzékenyebb módszer a BK funkció pontos meghatározására, mint az EF klasszikus módszerekkel történő mérése (101,126). Kimutatták, hogy a GLS vagy a GCS korábban jelzi a szisztolés diszfunkciót még akkor is, ha az EF normál tartományban van. Jelen vizsgálatunkban a danicamtiv BK szisztolés funkcióra gyakorolt hatását nemcsak a standard módszerekkel (EF, FS, SV, CO), hanem 2D-strain echokardiográfiával is értékeltük. A danicamtivval kezelt patkányszívekben szignifikánsan alacsonyabb (negatívabb) GLS és GCS értékeket mértünk, ami tovább erősíti a gyógyszer BK kontraktilitásra gyakorolt pozitív hatását.

Kísérleti eredményeink szívelégtelenségre történő extrapolálhatóságát korlátozhatja az a tény, hogy vizsgálatainkat egészséges állatokon végeztük. Ugyanakkor adataink összhangban vannak a szívelégtelenség kutyamodelljében és a danicamtivval végzett IIa fázisú vizsgálatban megfigyelt eredményekkel.

Összességében elmondható, hogy az OM és a danicamtiv szívre gyakorolt hatásai hasonlóak: mindkét vegyület javítja a bal kamra szisztolés funkcióját, ugyanakkor alkalmazásukkor diasztolés diszfunkció kialakulásával is számolnunk kell. A danicamtiv OM-lal szembeni előnye, hogy nem befolyásolja az IVRT-t és a IVCT-t, valamint nem változtatja meg az EDD-t sem.

A danicamtiv az OM-hez hasonlóan a Ca^{2+} -homeosztázis befolyásolása nélkül javítja a BK-i szisztolés funkciót. Vizsgálatunk során pitvari aritmia, malignus kamrai ritmuszavar, vagy vezetési zavar megjelenését nem tapasztaltuk, amely szintén támogatja azt a tényt, hogy a

danicamtiv mentes a konvencionális pozitív inotróp szerekre jellemző mellékhatásoktól. Fontos megjegyezni, hogy kutatócsoportunk egy korábbi *in vivo* vizsgálata során, ahol szintén egészséges patkányokon alkalmaztunk OM-kezelést, egy úgynevezett alternáló elektromechanikus jelenség alakult ki, amelyet a danicamtiv esetében nem tapasztaltunk. Ezt úgy definiáltuk, hogy a normális és a kisebb volumenű vagy hiányzó ejekciók közötti oszcilláció volt megfigyelhető, ütésről ütésre. Az alternáló kontraktilis diszfunkció részleges vagy teljes formában manifesztálódott. A részleges alternációt akkor definiálták, amikor a normális szisztolét részleges telődés és ennek következtében a bal kamra csökkent pulzustérfogata követte. A teljes alternációt gyakorlatilag semmilyen telődés és az azt követő frusztrált összehúzódás jellemezte a normális szisztolét követően. (124). Bár a danicamtiv is befolyásolja az BK-i diasztolés funkciót, ez a hatás kevésbé szembetűnő, mint az OM alkalmazásakor. Ez a különbség bizonyos mértékig összefügghet a danicamtiv által kiváltott pitvari kontraktilitás fokozódásával. Ezen kívül a diasztolés diszfunkció osztályhatásként jelenik meg a direkt miozin-aktivátorok alkalmazása során. Eredményeink alapján a danicamtivval kezelt betegeknél nagy figyelmet kell fordítani az BK diasztolés funkciójának rendszeres ellenőrzésére.

6.3 Limitációk

A kísérleteket *in vitro* végeztük enzimatikusan izolált kutya szívizomsejteken, szobahőmérsékleten és alacsony ingerlési arány mellett, ezért eredményeink emberi szívre történő extrapolálásakor mindenképpen óvatosságra van szükség. Mindazonáltal a kutya szívizomsejtek celluláris elektrofiziológiai szempontból a humán szívizomsejtekhez hasonló tulajdonságokkal rendelkeznek.

Mivel a biológiai folyamatok kinetikája a hőmérséklet csökkenésével lelassul, a standardizált körülmények között végzett kísérletek során alacsony frekvenciájú stimulációt választottunk. Jelenlegi kísérleteinkhez hasonlóan egy korábbi vizsgálatunkban 0,5 Hz, 1 Hz, 2 Hz-es ingerlési frekvenciák alkalmazása során a szívizomsejtek hosszának csökkenését és relaxációs zavarát figyeltük meg 1 μ M vagy 2 μ M OM koncentráció mellett, 37 °C-on. Az *in vitro* ép szívizomsejtekkel ellentétben az *in vivo* alkalmazott OM koncentrációk mellett potenciálisan alacsonyabb mértékű miozin-aktiváció érhető el.

6.4 Új tudományos eredmények

- Kutatásunk során igazoltuk, hogy az omecamtiv mecarbil téringerlés hiányában is a szarkomerhossz csökkenését idézi elő, igazolva ezzel kalciumérzékenyítő hatását.
- Az OM és az EMD hasonló támadáspont ellenére eltérően változtatja meg a miokardiális szarkomerdinamikát.
- Az OM hatására egyedi kalcium-szarkomerhossz összefüggés látható, mely során igazoltuk, hogy a növekvő OM koncentrációk esetén, eltolódva a kalciumtranziens lecsengése után következik be a relaxáció, nyugalmi/diasztolés kalciumszint mellett.
- In vivo vizsgálatainkban strain elemzés során elsőként írtuk le a danicamtiv összehúzóási kinetikájának a lassulását.
- Elsőként említjük a miozin-aktivátorok esetén a diasztolés diszfunkciót, mint osztályhatás (omecamtiv mecarbil és danicamtiv esetén), illetve mint elkerülhetetlen mellékhatást a szisztolés funkció javulása érdekében, melyet kísérleteink során szintén alátámasztottunk az ejekciós frakció, a frakcionális rövidülés és a non-invazívan mért hemodinamikai paramétereknek a becslésével.
- Igazoltuk, hogy a danicamtiv hatására a diasztolé ideje jelentősen lerövidül, ugyanis a szisztolé idejét elnyújtja, mely felveti a coronaria perfúzió csökkenésének a veszélyét.

7 Összefoglalás/Summary

Eredményeinket összegezve megállapítható, hogy az omecamtiv mecarbil (OM) *in vitro* a szisztolés funkció javulását változatlan Ca^{2+} -tranziensek mellett, a szisztolés szarkomerhossz csökkentése és kontrakciók elnyújtása révén éri el. A magasabb OM koncentrációk mellett a diasztolés szarkomerhosszak jelentős csökkenése, a kinetikai paraméterek lassulása és a kontrakció idejének szignifikáns növekedése figyelhető meg. Mindezen változások diasztolés diszfunkció kialakulásához vezetnek. Az EMD - a hasonló molekuláris támadáspont ellenére - mind a szisztolés, mind a diasztolés szarkomerhosszt csökkenti, ugyanakkor a kinetikai paramétereket inkább fokozza. A Levo a diasztolés szarkomerhossz megváltoztatása nélkül fokozta a kontrakciókat.

In vivo a danicamtiv hatására a bal kamrai kontraktilitás, a bal kamrai ejekciós frakció, a frakcionált rövidülés, a pulzustérfogat és a perctérfogat is jelentős mértékben növekedett. Korszerű echokardiográfiás módszerekkel a GLS és GCS javulása, míg a kontrakciós kinetika lassulása (radiális szisztolés csúcssebesség csökkenése és az M-módban mért kontrakció meredekségének ellapulása) volt kimutatható.

A miozin-aktivátorok legfontosabb echokardiográfiás markere a szisztolés ejekciós idő (SET) jelentős megnyúlása a szívfrekvencia, az IVCT és az IVRT változása nélkül. A szisztolés időtartamának megnyúlása következtében a diasztolés időtartama lerövidül, amely miokardiális iszkémia kialakulásához vezethet a szer alkalmazása során.

A miozin-aktivátorok esetén a szisztolés funkció javulása mellett számolni kell a diasztolés funkció romlásával (osztályhatás). A danicamtiv esetén kialakuló diasztolés diszfunkció nem elhanyagolható, ezért a kezelés előtt a bal kamrai diasztolés funkció pontos meghatározása, a kezelés alatt pedig annak szoros követése javasolt. Ezen potenciálisan káros hatások jelentősen korlátozhatják/megkérdőjelezhetik ezen új gyógyszercsoport klinikai gyakorlatban történő alkalmazását.

Summary

In summary, our results show that omecamtiv mecarbil (OM) improves systolic function *in vitro* by reducing systolic sarcomere length and prolonging contractions with unchanged Ca^{2+} transients. At higher OM concentrations, a significant reduction in diastolic sarcomere length, a slowing of kinetic parameters and a significant increase in contraction time are observed. All these changes lead to the development of diastolic dysfunction. EMD, despite a similar molecular point of action, decreases both systolic and diastolic sarcomere lengths, but tends to increase kinetic parameters. Levosimendan enhance contractions without altering diastolic sarcomere length.

In vivo, danicamtiv also significantly increase left ventricular contractility, left ventricular ejection fraction, fractional shortening, stroke volume and cardiac output. Using modern echocardiographic techniques, an improvement in GLS and GCS and a slowing of contraction kinetics (reduction in radial systolic peak velocity and flattening of M-mode contraction slope) are detected.

The most characteristic echocardiographic marker of myosin activators is a significant prolongation of systolic ejection time (ST) without changes in heart rate, IVCT and IVRT. The prolongation of the systole duration results in a shortening of the diastole duration, which may lead to myocardial ischaemia during the administration of these agents.

In addition to the improvement in systolic function, a deterioration in diastolic function (class effect) could be expected with myosin activators. Diastolic dysfunction with danicamtiv is not negligible and therefore accurate determination of left ventricular diastolic function prior to treatment and close monitoring during treatment are recommended. These potentially adverse effects may significantly limit/question the use of this new class of drugs in clinical practice.

8 Irodalomjegyzék

1. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). With the special contribut. European journal of heart failure. 2022 Jan;24(1):4–131.
2. Groenewegen A, Rutten FH, Mosterd A, Hoes AW. Epidemiology of heart failure. European journal of heart failure. 2020 Aug;22(8):1342–56.
3. Roger VL. Epidemiology of heart failure. Circulation research. 2013 Aug;113(6):646–59.
4. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. Heart (British Cardiac Society). 2007 Sep;93(9):1137–46.
5. János T, Emese T. Összefoglaló közlemény Szívelégtelenség epidemiológiája és terápiája Magyarországon a XXI. század elején. Cardiologia Hungarica. 2012;42:42.
6. Stewart S, MacIntyre K, Hole DJ, Capewell S, McMurray JJ. More “malignant” than cancer? Five-year survival following a first admission for heart failure. European journal of heart failure. 2001 Jun;3(3):315–22.
7. Cook C, Cole G, Asaria P, Jabbour R, Francis DP. The annual global economic burden of heart failure. International journal of cardiology. 2014 Feb;171(3):368–76.
8. Ambrosy AP, Fonarow GC, Butler J, Chioncel O, Greene SJ, Vaduganathan M, et al. The global health and economic burden of hospitalizations for heart failure: lessons learned from hospitalized heart failure registries. Journal of the American College of Cardiology. 2014 Apr;63(12):1123–33.
9. Chun S, Tu J V, Wijesundera HC, Austin PC, Wang X, Levy D, et al. Lifetime analysis of hospitalizations and survival of patients newly admitted with heart failure. Circulation Heart failure. 2012 Jul;5(4):414–21.
10. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. European heart journal. 2021 Sep;42(36):3599–726.
11. Schwinger RHG. Pathophysiology of heart failure. Cardiovascular diagnosis and therapy. 2021 Feb;11(1):263–76.
12. Ge Z, Li A, McNamara J, Dos Remedios C, Lal S. Pathogenesis and pathophysiology of heart failure with reduced ejection fraction: translation to human studies. Heart failure reviews. 2019 Sep;24(5):743–58.
13. Borlaug BA, Reddy YN V. Some Laws Were Not Made to Be Broken: When Frank-Starling Reserve Is Lost in Heart Failure. Vol. 10, JACC. Cardiovascular imaging. United States; 2017. p. 1250–2.
14. Westerhof N, O’Rourke MF. Haemodynamic basis for the development of left ventricular failure in systolic hypertension and for its logical therapy. Vol. 13, Journal

- of hypertension. England; 1995. p. 943–52.
15. Lee CS, Tkacs NC. Current concepts of neurohormonal activation in heart failure: mediators and mechanisms. *AACN advanced critical care*. 2008;19(4):364–7.
 16. Hartupee J, Mann DL. Neurohormonal activation in heart failure with reduced ejection fraction. *Nature reviews Cardiology*. 2017 Jan;14(1):30–8.
 17. Triposkiadis F, Karayannis G, Giamouzis G, Skoularigis J, Louridas G, Butler J. The sympathetic nervous system in heart failure physiology, pathophysiology, and clinical implications. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009 Nov;54(19):1747–62.
 18. Lymporopoulos A, Rengo G, Koch WJ. Adrenergic nervous system in heart failure: pathophysiology and therapy. *Circulation research*. 2013 Aug;113(6):739–53.
 19. Sayer G, Bhat G. The renin-angiotensin-aldosterone system and heart failure. *Cardiology clinics*. 2014 Feb;32(1):21–32, vii.
 20. Jackson G, Gibbs CR, Davies MK, Lip GY. ABC of heart failure. Pathophysiology. *BMJ (Clinical research ed)*. 2000 Jan;320(7228):167–70.
 21. Piano MR, Bondmass M, Schwertz DW. The molecular and cellular pathophysiology of heart failure. *Heart & Lung [Internet]*. 1998;27(1):3–19. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147956398900632>
 22. Burchfield JS, Xie M, Hill JA. Pathological ventricular remodeling: mechanisms: part 1 of 2. *Circulation*. 2013 Jul;128(4):388–400.
 23. Dzau VJ. Autocrine and paracrine mechanisms in the pathophysiology of heart failure. *The American journal of cardiology*. 1992 Oct;70(10):4C–11C.
 24. Francis GS, Pierpont GL. Pathophysiology of congestive heart failure secondary to congestive and ischemic cardiomyopathy. *Cardiovascular clinics*. 1988;19(1):57–74.
 25. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *Circulation [Internet]*. 1998;97(14):1411–20. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.CIR.97.14.1411>
 26. Galvao M. Role of angiotensin-converting enzyme inhibitors in congestive heart failure. *Heart & lung : the journal of critical care*. 1990 Sep;19(5 Pt 1):505–11.
 27. Ma TKW, Kam KKH, Yan BP, Lam Y-Y. Renin-angiotensin-aldosterone system blockade for cardiovascular diseases: current status. *British journal of pharmacology*. 2010 Jul;160(6):1273–92.
 28. Bakogiannis C, Theofilogiannakos E, Papadopoulos C, Lazaridis C, Bikakis I, Tzikas S, et al. A translational approach to the renin-angiotensin-aldosterone system in heart failure. *Annals of Research Hospitals; Vol 3 (June 2019): Annals of Research Hospitals [Internet]*. 2019; Available from: <https://arh.amegroups.com/article/view/4852>
 29. Zhang Y-Y, Yu Y, Yu C. Antifibrotic Roles of RAAS Blockers: Update. *Advances in experimental medicine and biology*. 2019;1165:671–91.

30. Heran BS, Musini VM, Bassett K, Taylor RS, Wright JM. Angiotensin receptor blockers for heart failure. The Cochrane database of systematic reviews. 2012 Apr;2012(4):CD003040.
31. Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, Matic M, Simic D, Radovanovic S, Simic T. Novel Biomarkers of Heart Failure. *Advances in clinical chemistry*. 2017;79:93–152.
32. Ibrahim NE, Januzzi JLJ. Established and Emerging Roles of Biomarkers in Heart Failure. *Circulation research*. 2018 Aug;123(5):614–29.
33. Velazquez EJ, Morrow DA, DeVore AD, Duffy CI, Ambrosy AP, McCague K, et al. Angiotensin–Neprilysin Inhibition in Acute Decompensated Heart Failure. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2019;380(6):539–48. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1812851>
34. Solomon SD, Claggett B, Packer M, Desai A, Zile MR, Swedberg K, et al. Efficacy of Sacubitril/Valsartan Relative to a Prior Decompensation: The PARADIGM-HF Trial. *JACC Heart failure*. 2016 Oct;4(10):816–22.
35. Bozkurt B, Nair AP, Misra A, Scott CZ, Mahar JH, Fedson S. Neprilysin Inhibitors in Heart Failure. *JACC: Basic to Translational Science* [Internet]. 2023;8(1):88–105. Available from: <https://www.jacc.org/doi/abs/10.1016/j.jacbts.2022.05.010>
36. Nemcekova V, Malikova E, Goncalvesova E, Krenek P, Klimas J. Altered serum levels of neprilysin in heart failure patients with reduced ejection fraction. *Bratislavske lekarske listy*. 2021;122(1):28–33.
37. Vizzardì E, Regazzoni V, Caretta G, Gavazzoni M, Sciatti E, Bonadei I, et al. Mineralocorticoid receptor antagonist in heart failure: Past, present and future perspectives. *International journal of cardiology Heart & vessels*. 2014 Jun;3:6–14.
38. Bruno N, Sinagra G, Paolillo S, Bonomi A, Corrà U, Piepoli M, et al. Mineralocorticoid receptor antagonists for heart failure: a real-life observational study. *ESC heart failure*. 2018 Jun;5(3):267–74.
39. Barrese V, Taglialatela M. New advances in beta-blocker therapy in heart failure. *Frontiers in physiology*. 2013;4:323.
40. Loop MS, van Dyke MK, Chen L, Safford MM, Kilgore ML, Brown TM, et al. Low Utilization of Beta-Blockers Among Medicare Beneficiaries Hospitalized for Heart Failure With Reduced Ejection Fraction. *Journal of cardiac failure*. 2019 May;25(5):343–51.
41. Gheorghiade M, Colucci WS, Swedberg K. β -Blockers in Chronic Heart Failure. *Circulation* [Internet]. 2003;107(12):1570–5. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.CIR.0000065187.80707.18>
42. Metra M, Nodari S, Dei Cas L. Beta-blockade in heart failure: selective versus nonselective agents. *American journal of cardiovascular drugs : drugs, devices, and other interventions*. 2001;1(1):3–14.
43. Vaduganathan M, Docherty KF, Claggett BL, Jhund PS, de Boer RA, Hernandez AF, et al. SGLT-2 inhibitors in patients with heart failure: a comprehensive meta-analysis

- of five randomised controlled trials. *Lancet* (London, England). 2022 Sep;400(10354):757–67.
44. McMurray JJ V, Solomon SD, Inzucchi SE, Køber L, Kosiborod MN, Martinez FA, et al. Dapagliflozin in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *The New England journal of medicine*. 2019 Nov;381(21):1995–2008.
 45. Kato ET, Silverman MG, Mosenzon O, Zelniker TA, Cahn A, Furtado RHM, et al. Effect of Dapagliflozin on Heart Failure and Mortality in Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation*. 2019 May;139(22):2528–36.
 46. Bhatt DL, Szarek M, Steg PG, Cannon CP, Leiter LA, McGuire DK, et al. Sotagliflozin in Patients with Diabetes and Recent Worsening Heart Failure. *The New England journal of medicine*. 2021 Jan;384(2):117–28.
 47. Squire I. Neurohormonal Intervention to Reduce Sudden Cardiac Death in Heart Failure: What is the Optimal Pharmacologic Strategy? *Heart Failure Reviews* [Internet]. 2005;9(4):337–45. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10741-005-7301-6>
 48. Allen LA, Stevenson LW, Grady KL, Goldstein NE, Matlock DD, Arnold RM, et al. Decision making in advanced heart failure: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2012 Apr;125(15):1928–52.
 49. Metra M, Dinatolo E, Dasseni N. The New Heart Failure Association Definition of Advanced Heart Failure. *Cardiac failure review*. 2019 Feb;5(1):5–8.
 50. Langer R. [The place of Hungary on Europe’s transplantation map]. *Orvosi hetilap*. 2022 Jul;163(30):1181–8.
 51. O’Connor CM, Gattis WA, Uretsky BF, Adams KFJ, McNulty SE, Grossman SH, et al. Continuous intravenous dobutamine is associated with an increased risk of death in patients with advanced heart failure: insights from the Flolan International Randomized Survival Trial (FIRST). *American heart journal*. 1999 Jul;138(1 Pt 1):78–86.
 52. Tacon CL, McCaffrey J, Delaney A. Dobutamine for patients with severe heart failure: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Intensive care medicine*. 2012 Mar;38(3):359–67.
 53. Denniss AL, Dashwood AM, Molenaar P, Beard NA. Sarcoplasmic reticulum calcium mishandling: central tenet in heart failure? *Biophysical reviews*. 2020 Aug;12(4):865–78.
 54. Barry WH, Bridge JH. Intracellular calcium homeostasis in cardiac myocytes. *Circulation*. 1993 Jun;87(6):1806–15.
 55. Landstrom AP, Dobrev D, Wehrens XHT. Calcium Signaling and Cardiac Arrhythmias. *Circulation Research* [Internet]. 2017;120(12):1969–93. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCRESAHA.117.310083>
 56. Terrar DA. Calcium Signaling in the Heart. *Advances in experimental medicine and biology*. 2020;1131:395–443.

57. Fearnley CJ, Roderick HL, Bootman MD. Calcium signaling in cardiac myocytes. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2011 Nov;3(11):a004242.
58. Endoh M. Cardiac Ca²⁺ signaling and Ca²⁺ sensitizers. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2008 Dec;72(12):1915–25.
59. Bistola V, Chioncel O. Inotropes in acute heart failure. *Continuing Cardiology Education* [Internet]. 2017;3(3):107–16. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cce2.59>
60. Amsallem E, Kasparian C, Haddour G, Boissel JP, Nony P. Phosphodiesterase III inhibitors for heart failure. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2005 Jan;2005(1):CD002230.
61. Kelly RA. Cardiac glycosides and congestive heart failure. *The American journal of cardiology*. 1990 Mar;65(10):10E-16E; discussion 22E-23E.
62. Konstantinou DM, Karvounis H, Giannakoulas G. Digoxin in Heart Failure with a Reduced Ejection Fraction: A Risk Factor or a Risk Marker? *Cardiology* [Internet]. 2016;134(3):311–9. Available from: <https://www.karger.com/DOI/10.1159/000444078>
63. Bistola V, Arfaras-Melainis A, Polyzogopoulou E, Ikonomidis I, Parissis J. Inotropes in Acute Heart Failure: From Guidelines to Practical Use: Therapeutic Options and Clinical Practice. *Cardiac Failure Review* 2019;5(3):133–9 [Internet]. 2019; Available from: <https://doi.org/10.15420/cfr.2019.11.2>
64. Ahmad T, Miller PE, McCullough M, Desai NR, Riello R, Psotka M, et al. Why has positive inotropy failed in chronic heart failure? Lessons from prior inotrope trials. *European journal of heart failure*. 2019 Sep;21(9):1064–78.
65. Tariq S, Aronow WS. Use of Inotropic Agents in Treatment of Systolic Heart Failure. *International journal of molecular sciences*. 2015 Dec;16(12):29060–8.
66. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). With the special contribut. *European journal of heart failure*. 2022 Jan;24(1):4–131.
67. Burkhoff D, Rich S, Pollesello P, Papp Z. Levosimendan-induced venodilation is mediated by opening of potassium channels. *ESC heart failure*. 2021 Dec;8(6):4454–64.
68. Nieminen MS, Fruhwald S, Heunks LMA, Suominen PK, Gordon AC, Kivikko M, et al. Levosimendan: current data, clinical use and future development. *Heart, lung and vessels*. 2013;5(4):227–45.
69. Papp Z, Agostoni P, Alvarez J, Bettex D, Bouchez S, Brito D, et al. Levosimendan Efficacy and Safety: 20 Years of SIMDAX in Clinical Use. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2020 Jul;76(1):4–22.
70. Ferroni C, Hano O, Ventura C, Lakatta EG, Klockow M, Spurgeon H, et al. A novel positive inotropic substance enhances contractility without increasing the Ca²⁺

- transient in rat myocardium. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1991 Mar;23(3):325–31.
71. Beier N, Harting J, Jonas R, Klockow M, Lues I, Haeusler G. The novel cardiogenic agent EMD 53 998 is a potent “calcium sensitizer”. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1991 Jul;18(1):17–27.
 72. Solaro RJ, Gambassi G, Warshaw DM, Keller MR, Spurgeon HA, Beier N, et al. Stereoselective actions of thiadiazinones on canine cardiac myocytes and myofilaments. *Circulation research*. 1993 Dec;73(6):981–90.
 73. Gambassi G, Capogrossi MC, Klockow M, Lakatta EG. Enantiomeric dissection of the effects of the inotropic agent, EMD 53998, in single cardiac myocytes. *The American journal of physiology*. 1993 Mar;264(3 Pt 2):H728–38.
 74. Teerlink JR, Clarke CP, Saikali KG, Lee JH, Chen MM, Escandon RD, et al. Dose-dependent augmentation of cardiac systolic function with the selective cardiac myosin activator, omecamtiv mecarbil: a first-in-man study. *Lancet (London, England)*. 2011 Aug;378(9792):667–75.
 75. Abstracts of the Heart Failure 2019 and the World Congress on Acute Heart Failure, 25-28 May 2019, Megaron Athens International Conference Centre, Greece. *European journal of heart failure*. 2019 May;21 Suppl 1(Suppl 1):5–592.
 76. Zoltán P. Miokardiális szarkomerdinamika élettani és kóros körülmények között. In: *Physiologica, Studia. Physiologica, Studia*; 2012.
 77. Malik FI, Hartman JJ, Elias KA, Morgan BP, Rodriguez H, Brejc K, et al. Cardiac myosin activation: a potential therapeutic approach for systolic heart failure. *Science (New York, NY)*. 2011 Mar;331(6023):1439–43.
 78. Morgan BP, Muci A, Lu P, Qian X, Tochimoto T, Smith WW, et al. Discovery of Omecamtiv Mecarbil the First, Selective, Small Molecule Activator of Cardiac Myosin. 2010;472–7.
 79. Radke MB, Taft MH, Stapel B, Hilfiker-Kleiner D, Preller M, Manstein DJ. Small molecule-mediated refolding and activation of myosin motor function. *eLife*. 2014 Feb;3:e01603.
 80. Malik FI, Morgan BP. Cardiac myosin activation part 1: from concept to clinic. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2011 Oct;51(4):454–61.
 81. Shen Y-T, Malik FI, Zhao X, Depre C, Dhar SK, Abarzúa P, et al. Improvement of cardiac function by a cardiac Myosin activator in conscious dogs with systolic heart failure. *Circulation Heart failure*. 2010 Jul;3(4):522–7.
 82. Bakkehaug JP, Kildal AB, Engstad ET, Boardman N, Næsheim T, Rønning L, et al. Myosin Activator Omecamtiv Mecarbil Increases Myocardial Oxygen Consumption and Impairs Cardiac Efficiency Mediated by Resting Myosin ATPase Activity. *Circulation Heart failure*. 2015 Jul;8(4):766–75.
 83. Teerlink JR, Clarke CP, Saikali KG, Lee JH, Chen MM, Escandon RD, et al. Dose-dependent augmentation of cardiac systolic function with the selective cardiac myosin

- activator, omecamtiv mecarbil: a first-in-man study. *Lancet* (London, England). 2011 Aug;378(9792):667–75.
84. Cleland JGF, Teerlink JR, Senior R, Nifontov EM, Mc Murray JJ V, Lang CC, et al. The effects of the cardiac myosin activator, omecamtiv mecarbil, on cardiac function in systolic heart failure: a double-blind, placebo-controlled, crossover, dose-ranging phase 2 trial. *Lancet* (London, England). 2011 Aug;378(9792):676–83.
 85. Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJ V, Ponikowski P, Metra M, Filippatos GS, et al. Acute Treatment with Omecamtiv Mecarbil to Increase Contractility in Acute Heart Failure: The ATOMIC-AHF Study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2016;67(12):1444–55.
 86. Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJ V, Solomon SD, Adams KFJ, Cleland JGF, et al. Chronic Oral Study of Myosin Activation to Increase Contractility in Heart Failure (COSMIC-HF): a phase 2, pharmacokinetic, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* (London, England). 2016 Dec;388(10062):2895–903.
 87. Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, McMurray JJ V, Metra M, Solomon SD, et al. Cardiac Myosin Activation with Omecamtiv Mecarbil in Systolic Heart Failure. *The New England journal of medicine*. 2021 Jan;384(2):105–16.
 88. Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, McMurray JJ V, Metra M, Solomon SD, et al. Effect of Ejection Fraction on Clinical Outcomes in Patients Treated With Omecamtiv Mecarbil in GALACTIC-HF. *Journal of the American College of Cardiology*. 2021 Jul;78(2):97–108.
 89. Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, McMurray JJ V, Metra M, Solomon SD, et al. Omecamtiv Mecarbil in Chronic Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: Rationale and Design of GALACTIC-HF. *JACC Heart failure*. 2020 Apr;8(4):329–40.
 90. Voors AA, Tamby J-F, Cleland JG, Koren M, Forgosh LB, Gupta D, et al. Effects of danicamtiv, a novel cardiac myosin activator, in heart failure with reduced ejection fraction: experimental data and clinical results from a phase 2a trial. *European journal of heart failure*. 2020 Sep;22(9):1649–58.
 91. Planelles-Herrero VJ, Hartman JJ, Robert-Paganin J, Malik FI, Houdusse A. Mechanistic and structural basis for activation of cardiac myosin force production by omecamtiv mecarbil. *Nature communications*. 2017 Aug;8(1):190.
 92. Hein SJ, Lehmann LH, Kossack M, Juergensen L, Fuchs D, Katus HA, et al. Advanced echocardiography in adult zebrafish reveals delayed recovery of heart function after myocardial cryoinjury. *PloS one*. 2015;10(4):e0122665.
 93. Grillo MP, Markova S, Evanchik M, Trelu M, Moliner P, Brun P, et al. Preclinical in vitro and in vivo pharmacokinetic properties of danicamtiv, a new targeted myosin activator for the treatment of dilated cardiomyopathy. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*. 2021 Feb;51(2):222–38.
 94. Shen S, Sewanan LR, Jacoby DL, Campbell SG. Danicamtiv Enhances Systolic Function and Frank-Starling Behavior at Minimal Diastolic Cost in Engineered Human Myocardium. Vol. 10, *Journal of the American Heart Association*. 2021. p. e020860.

95. Yuan L, Wang T, Liu F, Cohen ED, Patel V V. An evaluation of transmitral and pulmonary venous Doppler indices for assessing murine left ventricular diastolic function. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2010 Aug;23(8):887–97.
96. Hegyi B, Horváth B, Váczi K, Gönczi M, Kistamás K, Ruzsnavszky F, et al. Ca(2+)-activated Cl(-) current is antiarrhythmic by reducing both spatial and temporal heterogeneity of cardiac repolarization. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2017 Aug;109:27–37.
97. Horváth B, Váczi K, Hegyi B, Gönczi M, Dienes B, Kistamás K, et al. Sarcolemmal Ca(2+)-entry through L-type Ca(2+) channels controls the profile of Ca(2+)-activated Cl(-) current in canine ventricular myocytes. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2016 Aug;97:125–39.
98. Andrei SR, Ghosh M, Sinharoy P, Dey S, Bratz IN, Damron DS. TRPA1 ion channel stimulation enhances cardiomyocyte contractile function via a CaMKII-dependent pathway. *Channels (Austin, Tex)*. 2017 Nov;11(6):587–603.
99. Moran C, Thomson A. Preclinical Ultrasound Imaging—A Review of Techniques and Imaging Applications. *Frontiers in Physics*. 2020 May;8:124.
100. Bauer M, Cheng S, Jain M, Ngoy S, Theodoropoulos C, Trujillo A, et al. Echocardiographic speckle-tracking based strain imaging for rapid cardiovascular phenotyping in mice. *Circulation research*. 2011 Apr;108(8):908–16.
101. Smiseth OA, Torp H, Opdahl A, Haugaa KH, Urheim S. Myocardial strain imaging: how useful is it in clinical decision making? *European heart journal*. 2016 Apr;37(15):1196–207.
102. Beyhoff N, Brix S, Betz IR, Klopffleisch R, Foryst-Ludwig A, Krannich A, et al. Application of Speckle-Tracking Echocardiography in an Experimental Model of Isolated Subendocardial Damage. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2017 Dec;30(12):1239-1250.e2.
103. Szilágyi S, Pollesello P, Levijoki J, Kaheinen P, Haikala H, Edes I, et al. The effects of levosimendan and OR-1896 on isolated hearts, myocyte-sized preparations and phosphodiesterase enzymes of the guinea pig. *European journal of pharmacology*. 2004 Feb;486(1):67–74.
104. Szilágyi S, Pollesello P, Levijoki J, Haikala H, Bak I, Tósaki A, et al. Two inotropes with different mechanisms of action: contractile, PDE-inhibitory and direct myofibrillar effects of levosimendan and enoximone. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2005 Sep;46(3):369–76.
105. Nagy L, Kovács Á, Bódi B, Pásztor ET, Fülöp GÁ, Tóth A, et al. The novel cardiac myosin activator omecamtiv mecarbil increases the calcium sensitivity of force production in isolated cardiomyocytes and skeletal muscle fibres of the rat. *British journal of pharmacology*. 2015 Sep;172(18):4506–18.
106. Borbély A, van der Velden J, Papp Z, Bronzwaer JGF, Edes I, Stienen GJM, et al.

- Cardiomyocyte stiffness in diastolic heart failure. *Circulation*. 2005 Feb;111(6):774–81.
107. Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJ V, Solomon SD, Adams KFJ, Cleland JGF, et al. Chronic Oral Study of Myosin Activation to Increase Contractility in Heart Failure (COSMIC-HF): a phase 2, pharmacokinetic, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* (London, England). 2016 Dec;388(10062):2895–903.
 108. Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJV, Ponikowski P, Metra M, Filippatos GS, et al. Acute Treatment with Omecamtiv Mecarbil to Increase Contractility in Acute Heart Failure: The ATOMIC-AHF Study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2016;67(12):1444–55.
 109. Cleland JGF, Teerlink JR, Senior R, Nifontov EM, Mc Murray JJ V, Lang CC, et al. The effects of the cardiac myosin activator, omecamtiv mecarbil, on cardiac function in systolic heart failure: a double-blind, placebo-controlled, crossover, dose-ranging phase 2 trial. *Lancet* (London, England). 2011 Aug;378(9792):676–83.
 110. Poggesi C, Tesi C, Stehle R. Sarcomeric determinants of striated muscle relaxation kinetics. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*. 2005 Mar;449(6):505–17.
 111. Gordon AM, Homsher E, Regnier M. Regulation of contraction in striated muscle. *Physiological reviews*. 2000 Apr;80(2):853–924.
 112. Liu Y, White HD, Belknap B, Winkelmann DA, Forgacs E. Omecamtiv Mecarbil modulates the kinetic and motile properties of porcine β -cardiac myosin. *Biochemistry*. 2015 Mar;54(10):1963–75.
 113. Wang Y, Ajtai K, Burghardt TP. Analytical comparison of natural and pharmaceutical ventricular myosin activators. *Biochemistry*. 2014 Aug;53(32):5298–306.
 114. Wilson K, Guggilam A, West TA, Zhang X, Trask AJ, Cismowski MJ, et al. Effects of a myofilament calcium sensitizer on left ventricular systolic and diastolic function in rats with volume overload heart failure. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2014 Dec;307(11):H1605-17.
 115. Lehman SJ, Crocini C, Leinwand LA. Targeting the sarcomere in inherited cardiomyopathies. *Nature reviews Cardiology*. 2022 Jun;19(6):353–63.
 116. Olivotto I, Oreziak A, Barriales-Villa R, Abraham TP, Masri A, Garcia-Pavia P, et al. Mavacamten for treatment of symptomatic obstructive hypertrophic cardiomyopathy (EXPLORER-HCM): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* (London, England). 2020 Sep;396(10253):759–69.
 117. Nánási PP, Horváth B, Tar F, Almássy J, Szentandrassy N, Jost N, et al. Canine Myocytes Represent a Good Model for Human Ventricular Cells Regarding Their Electrophysiological Properties. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland). 2021 Jul;14(8).
 118. Zacchigna S, Paldino A, Falcão-Pires I, Daskalopoulos EP, Dal Ferro M, Vodret S, et al. Towards standardization of echocardiography for the evaluation of left ventricular function in adult rodents: a position paper of the ESC Working Group on Myocardial Function. *Cardiovascular research*. 2021 Jan;117(1):43–59.

119. Francis GS, Tang WHW. Pathophysiology of congestive heart failure. *Reviews in cardiovascular medicine*. 2003;4 Suppl 2:S14-20.
120. Alsulami K, Marston S. Small Molecules acting on Myofilaments as Treatments for Heart and Skeletal Muscle Diseases. *International journal of molecular sciences*. 2020 Dec;21(24).
121. Bernier TD, Buckley LF. Cardiac Myosin Activation for the Treatment of Systolic Heart Failure. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2021 Jan;77(1):4–10.
122. Packer M, Carver JR, Rodeheffer RJ, Ivanhoe RJ, DiBianco R, Zeldis SM, et al. Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. The PROMISE Study Research Group. *The New England journal of medicine*. 1991 Nov;325(21):1468–75.
123. O'Connor CM, Gattis WA, Uretsky BF, Adams KFJ, McNulty SE, Grossman SH, et al. Continuous intravenous dobutamine is associated with an increased risk of death in patients with advanced heart failure: insights from the Flolan International Randomized Survival Trial (FIRST). *American heart journal*. 1999 Jul;138(1 Pt 1):78–86.
124. Fülöp GÁ, Oláh A, Csipo T, Kovács Á, Pórszász R, Veress R, et al. Omecamtiv mecarbil evokes diastolic dysfunction and leads to periodic electromechanical alternans. *Basic research in cardiology*. 2021 Apr;116(1):24.
125. Perk G, Tunick PA, Kronzon I. Non-Doppler two-dimensional strain imaging by echocardiography--from technical considerations to clinical applications. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2007 Mar;20(3):234–43.
126. Stokke TM, Hasselberg NE, Smedsrud MK, Sarvari SI, Haugaa KH, Smiseth OA, et al. Geometry as a Confounder When Assessing Ventricular Systolic Function: Comparison Between Ejection Fraction and Strain. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017 Aug;70(8):942–54.



**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/84/2023.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Ráduly Arnold Péter
Doktori Iskola: Laki Kálmán Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Ráduly, A. P.**, Tóth, A., Sárkány, F., Horváth, B., Szentandrassy, N., Nánási, P. P., Csanádi, Z., Édes, I., Papp, Z., Borbély, A.: Omecantiv mecarbil augments cardiomyocyte contractile activity both at resting and systolic Ca²⁺ levels. *ESC Heart Failure. [Epub ahead of print]*, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ehf2.14300>
IF: 3.612 (2021)
2. **Ráduly, A. P.**, Sárkány, F., Kovács, M. B., Bernát, B., Juhász, B., Szilvássy, Z., Pórszász, R., Horváth, B., Szentandrassy, N., Nánási, P. P., Csanádi, Z., Édes, I., Tóth, A., Papp, Z., Priksz, D., Borbély, A.: The Novel Cardiac Myosin Activator Danicantiv Improves Cardiac Systolic Function at the Expense of Diastolic Dysfunction In Vitro and In Vivo: Implications for Clinical Applications. *Int. J. Mol. Sci.* 24 (1), 446, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24010446>
IF: 6.208 (2021)

További közlemények

3. Bernát, B., Erdélyi, R., Fazekas, L., Garami, G., Szekeres, R., Takács, B., Bombicz, M., Varga, B., Sárkány, F., **Ráduly, A. P.**, Romanescu, D. D., Papp, Z., Tóth, A., Szilvássy, Z., Juhász, B., Priksz, D.: Drug Candidate BGP-15 Prevents Isoproterenol-Induced Arrhythmias and Alters Heart Rate Variability (HRV) in Telemetry-Implanted Rats. *Pharmaceuticals (Basel)*. 16 (3), 1-22, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ph16030359>
IF: 5.215 (2021)





4. Priksz, D., Lampé, N., Kovács, Á., Herwig, M., Bombicz, M., Varga, B., Wilisicz, T., Szilvássy, J., Pósa, A., Kiss, R., Gesztelyi, R., **Ráduly, A. P.**, Szekeres, R., Sieme, M., Papp, Z., Tóth, A., Hamdani, N., Szilvássy, Z., Juhász, B.: Nicotinic-acid derivative BGP-15 improves diastolic function in a rabbit model of atherosclerotic cardiomyopathy.
Br. J. Pharmacol. 179 (10), 2240-2258, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/bph.15749>
IF: 9.473 (2021)
5. Fagyas, M., Nagy, B. J., **Ráduly, A. P.**, Mátyásné Siket, I., Mártha, L., Erdősi, G., Sipka, S. i., Enyedi, E. E., Szabó, A. Á., Pólik, Z., Kappelmayer, J., Papp, Z., Borbély, A., Szabó, T., Balla, J., Balla, G., Bai, P., Bácsi, A., Tóth, A.: The majority of severe COVID-19 patients develop anti-cardiac autoantibodies.
GeroScience. 44, 2347-2360, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11357-022-00649-6>
IF: 7.581 (2021)
6. Sárkány, F., **Ráduly, A. P.**, Borbély, A.: Az intravénás vaspótlás jelentősége krónikus szisztolés szívelégtelenségben.
Orvostovábbk. szle. 28 (3), 41-46, 2021.
7. **Ráduly, A. P.**, Tóth, A., Papp, Z., Borbély, A.: Új lehetőség a szisztolés szívelégtelenség (HFrEF) kezelésében: omecamtiv-mecarbil.
Cardiol. Hung. 51 (2), 118-124, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.26430/CHUNGARICA.2021.51.2.118>
8. **Ráduly, A. P.**, Kothalawala, E., Borbély, A.: Előrelépés a szívelégtelenség kezelésében.
Háziorv. továbbk. szle. 25, 797-802, 2020.
9. Kiss, A., **Ráduly, A. P.**, Regdon, Z., Polgár, Z., Taraposák, S., Stumolo, I., El-Hamoly, T., Virág, L., Hegedűs, C.: Targeting nuclear NAD⁺ synthesis inhibits DNA repair, impairs metabolic adaptation increases chemosensitivity of U-2OS osteosarcoma cells.
Cancers (Basel). 12 (5), 1-27, 2020.
IF: 6.639

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 38,728

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 9,82

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

Debrecen, 2023.03.17.



9 Tárgyszavak

Magyarul: miozin-aktivátorok, pozitív inotrópia, HFrEF, Omecamtiv mecarbil, Danicamtiv, diasztolés diszfunkció, miozin, kereszthíd ciklus

Angolul: myosin activators, positive inotropy, HFrEF, Omecamtiv mecarbil, Danicamtiv, diastolic dysfunction, myosin, crossbridge cycle

10 Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Borbély Attilának, aki PhD munkám kezdete óta lelkesen támogatott, tudományos gondolkodásmódomat formálta, munkámat segítette és példát mutatott, szakmailag és emberileg egyaránt.

Hálás vagy Dr. Papp Zoltán Professzor Úrnak, aki megteremtette a lehetőséget, hogy a Klinikai Fiziológiai Tanszéken végezhessem a kutatásaimat, továbbá a kritikus tudományos gondolkodás és precizitás alapjait átadta számomra.

Köszönettel tartozom Dr. Tóth Attila Professzor Úrnak, aki állandó gyakorlati tanácsaival, iránymutatásaival és kreativitásával nagyban hozzájárult a gyakorlati és elméleti tudásom nagyfokú fejlődéséhez.

Külön köszönettel tartozom Pólik Zsófiának, aki nem csak a klinikai kutatásokban nyújtott hatalmas segítséget, hanem baráti támogatására minden nehéz időszakban számíthattam, és kiváló csapatot alkottunk a klinikai kutatásokban.

Köszönöm a Klinikai Fiziológiai Tanszék további munkatársainak és jelenleg aktív és volt PhD hallgatóinak, hogy baráti támogató környezetet teremtettek és ezzel nagyban segítették a munkámat.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni Édesanyámnak és Édesapámnak, hogy nem csak a PhD tanulmányaim alatt, de az eddigi összes megpróbáltatás során mellettem voltak és a legnagyobb segítséget nyújtották számomra. Továbbá hálás vagyok bátyámnak, aki PhD tanulmányaim alatt is igyekezett az általános iskolában megkezdett, gimnáziumon és egyetemen át folytatott tanácsaival a helyes irányban tartani. Köszönöm sógornőmnek és öcsémnek, nagymamámnak, barátaimnak és kedves páromnak, hogy bíztak bennem és erőt adtak mikor szükségem volt rá.

Továbbá a kutatás elkészítését a GINOP-2.3.2-15-2016-00043. számú, „Szív- és érutatási kiválóságközpont (IRONHEART)” című projekt támogatta. Ezen túl a munka elkészítését a GINOP-2.3.2-15-2016-00048. számú, „Életet veszélyeztető akut megbetegedések súlyossági és halálozási mutatóinak javítása transzlációs orvostudományi megközelítésben – Stay Alive” című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg és TKP2020-NKA-04 - Járműipar, Inzulinrezisztencia, Űrkutatás (DE-SPACE) támogatta.

11 Függelék

Az *in vitro* kísérletek tervezése Dr. Borbély Attilával, Prof. Dr. Papp Zoltánnal, illetve Prof. Dr. Tóth Attilával történt. A szívizomsejtek izolálása az Debreceni Egyetem Élettani Intézet által lett kivitelezve. (Dr. Szentandrassy Norbert, Dr. Horváth Balázs, Prof. Dr. Nánási Péter Pál) A továbbiakban a kísérletek kivitelezése, eredmények értékelése saját munka.

A danicamtivval kapcsolatos *in vivo* kísérlet tervezésében Dr. Borbély Attila, Dr. Priksz Dániel (Debreceni Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet), Prof. Dr. Papp Zoltán és Prof. Dr. Tóth Attila nyújtottak segítséget. A kísérletek kivitelezése és az adatok elemzése saját munka, melyben Dr. Priksz Dániel nyújtott segítséget.