

Intracelluláris módszerek a szív elektrofiziológiai tulajdonságainak vizsgálatára

Tóth András DSc.

2018

Témák (a ***-gal jelölt fejezetek a vizsgához nem szükségesek)

- **Preparátumok**
 - *Sejt izolálás*
 - *Multicelluláris minták és izolált szív*
- **Mikroelektród technikák**
 - *Háttér*
 - *Konvencionális (éles) mikroelektród technika*
 - *Akciós potenciál mérések*
 - *Adatfeldolgozás és analízis*
 - *„Patch clamp” technika*
 - *Transzmembrán ion áram mérések*
 - *Adatfeldolgozás és analízis*
- **Optikai technikák**
 - *Háttér*
 - *Mérések fluoreszcens „tracer”-ekkel*
 - *Az intracelluláris Ca^{2+} mozgások vizsgálata*
 - *Akciós potenciál mérések és „mapping”*
 - *Adatfeldolgozás és analízis*
- **Szupplementum**
 - *Szubcelluláris Ca^{2+} mérések****
 - *Speciális optikai technikák****
 - *Néhány példa saját méréseinkből****

Preparátumok

Enzimatikus sejt izolálás

- Perfúziós módszer

Langendorff berendezés – koronária áramlás

Egész szív vagy nagyobb szegmens

Az izolált sejtek jobb minősége

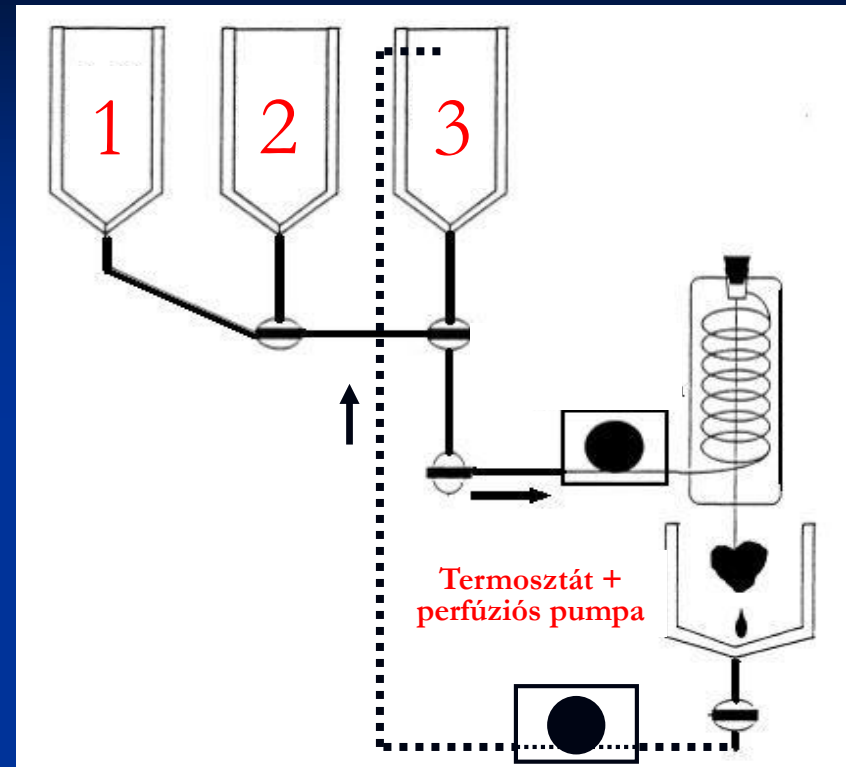
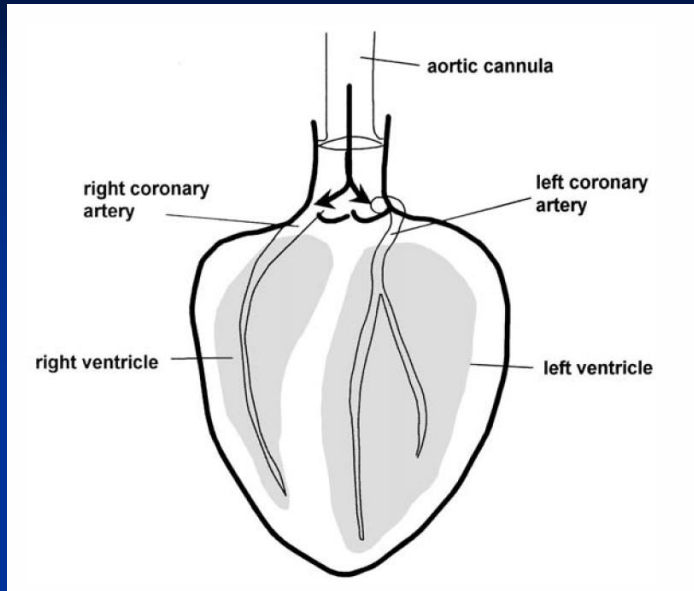
- „Chunk (darabka)” módszer

A szív (vagy szív minta) kisebb darabokra vágva

Kisméretű (pl. humán) mintákkal is használható

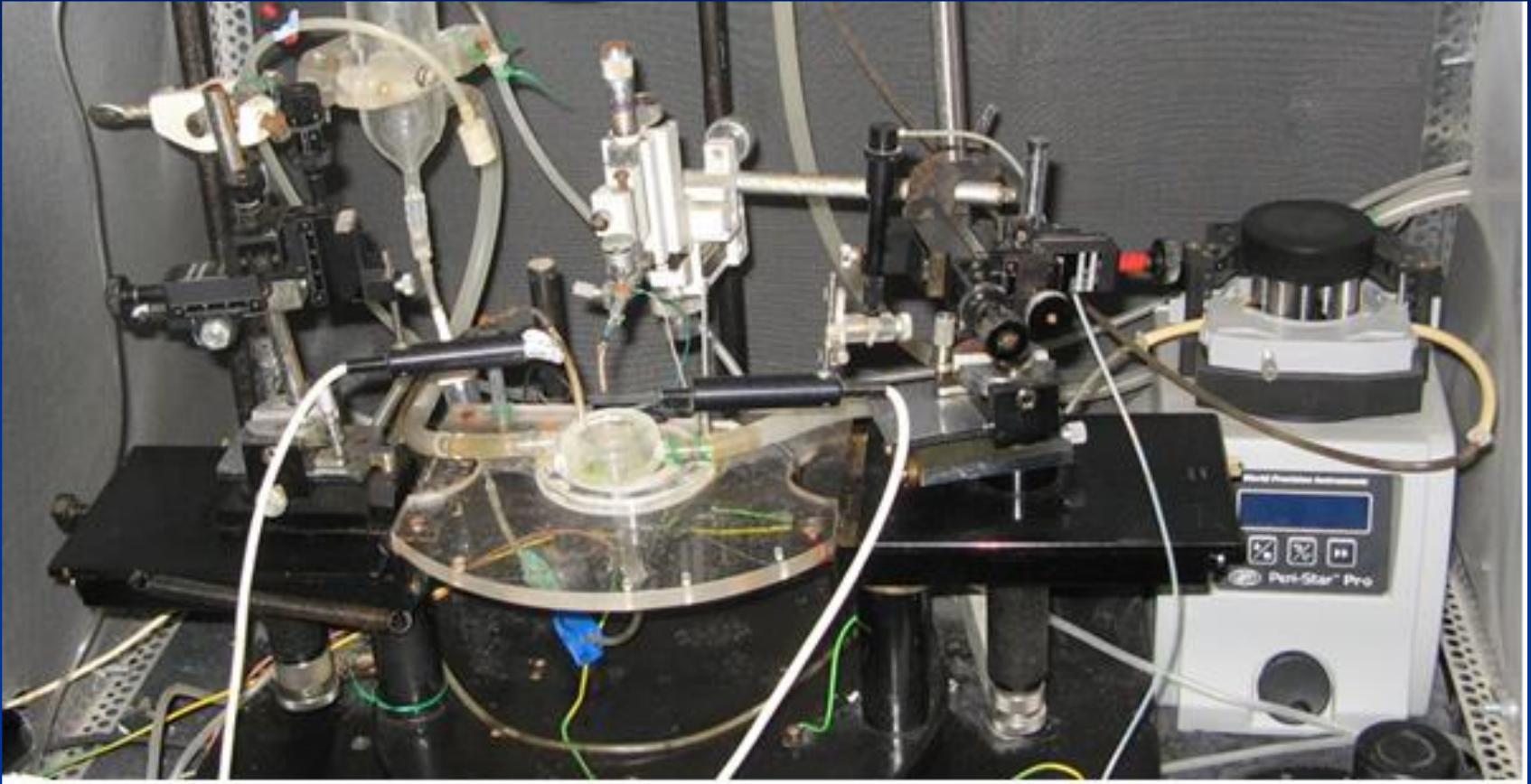
Több frakció (pl. endo-, midmio-, epikardiális)

Sejt izolálás Langendorff rendszerrel



- 1 Ca^{2+} (1 mM) tartalmú oldat
 - 2 Ca^{2+} -mentes perfúziós oldat
 - 3 Kötőszövetet bontó enzim (kollagenáz, proteáz, hialuronidáz) tartalmú oldat
- + Mechanikai szeparálás

Multicelluláris mérések



Gyakran használt multicelluláris preparátumok:

- izolált Purkinje rostok
- szív szeletek
- pitvari/kamrai minták, stb.

Langendorff rendszer (állandó nyomás)



Szabályozott paraméterek

Gerjesztőfényintenzitás
Bal kamrai nyomás (ballon)
Töltő nyomás*
Hőmérséklet
Kiválasztott felszíni régió
Oxigén szint

Mért/számított paraméterek

Optikai jelek
Bal kamrai nyomás
Töltő nyomás*
Hőmérséklet
EKG
Szívfrekvencia
Optikai arány
 dP/dt stb.

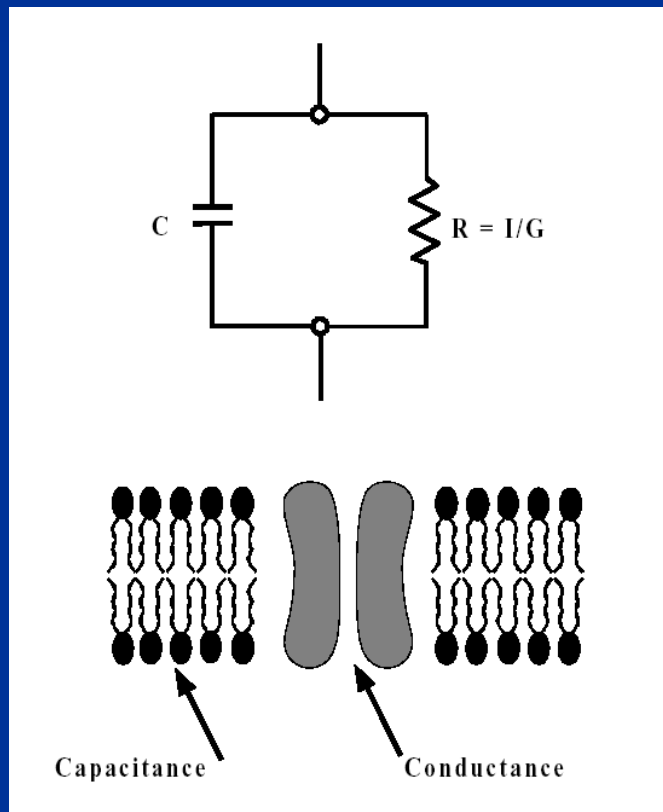
Mikroelektrod mérések 1.

Háttér

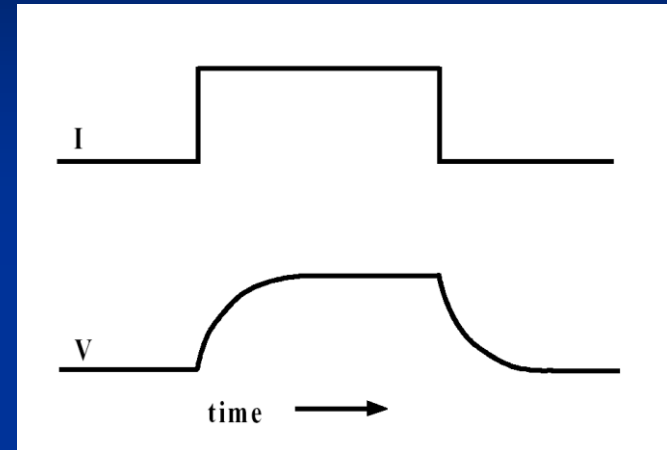
Ohm törvény: $I = U/R = U \cdot G$

G: vezetés = $1/R$

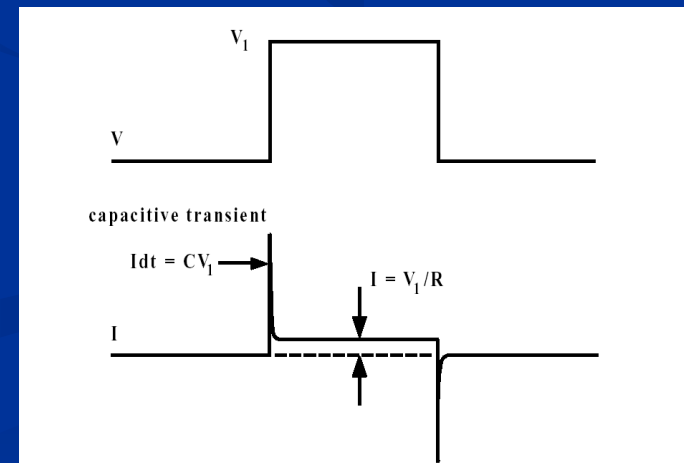
Egy ioncsatorna elektromos modellje



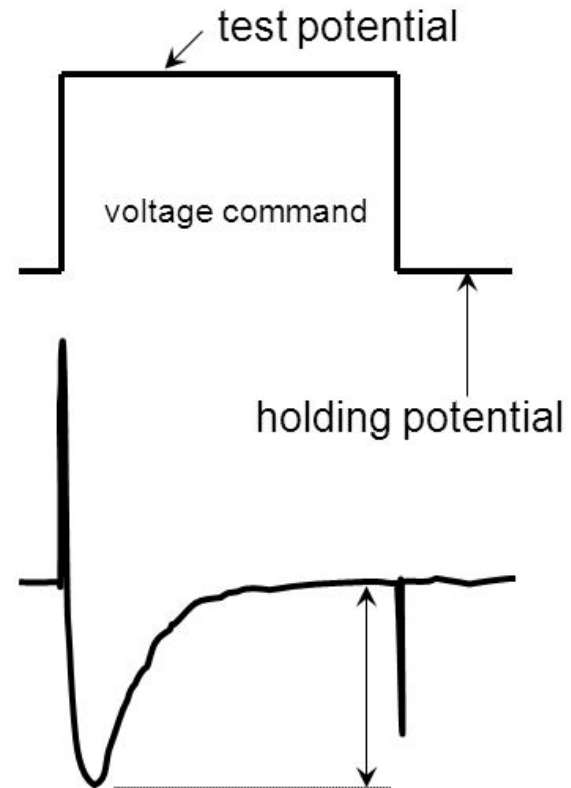
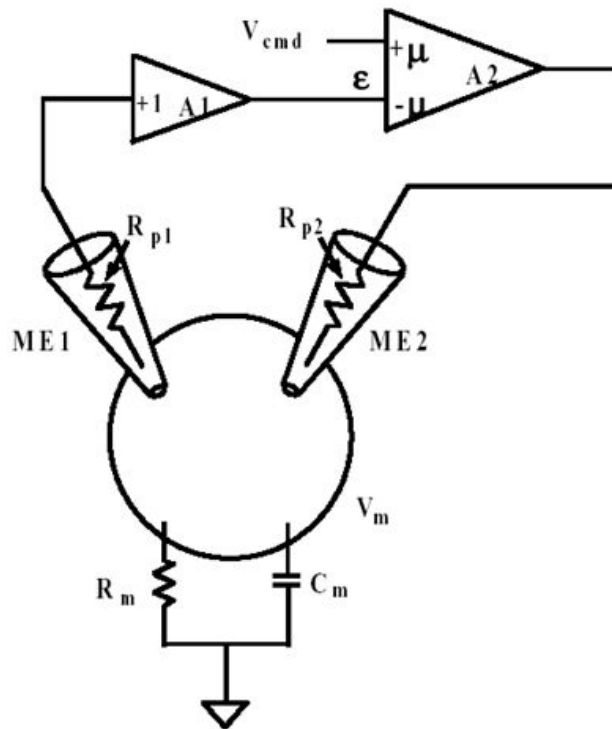
„Current clamp”



„Voltage clamp”



Two microelectrode voltage clamp



The macroscopic sodium current

Microelectrodes

Why

Measure potential difference across cell membrane

Requirements

- Small enough to be placed into cell
- Strong enough to penetrate cell membrane
- Typical tip diameter: 0.05 – 10 microns

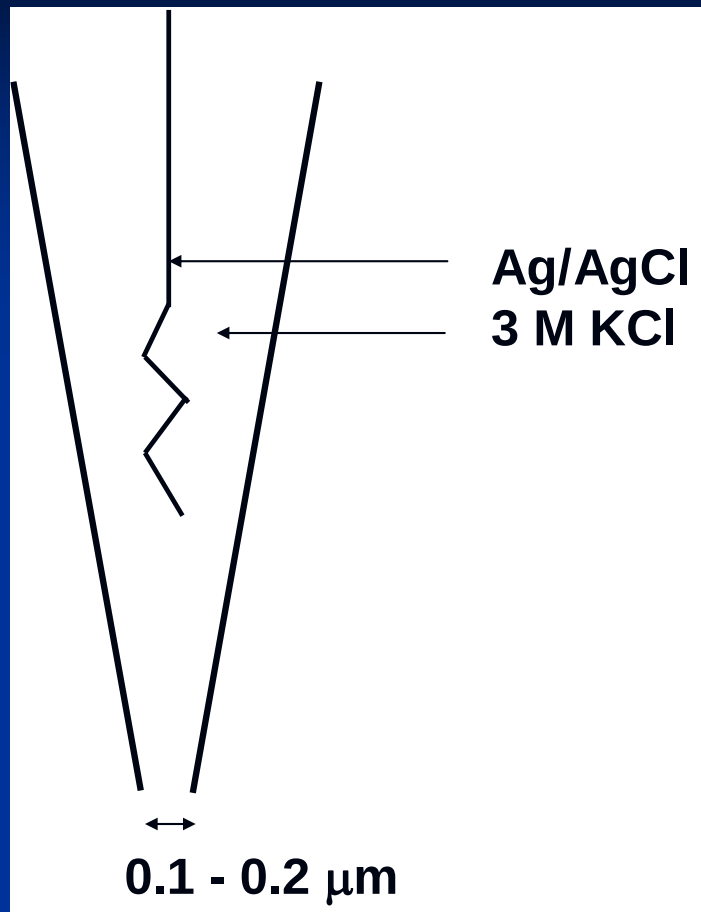
Intracellular

Extracellular

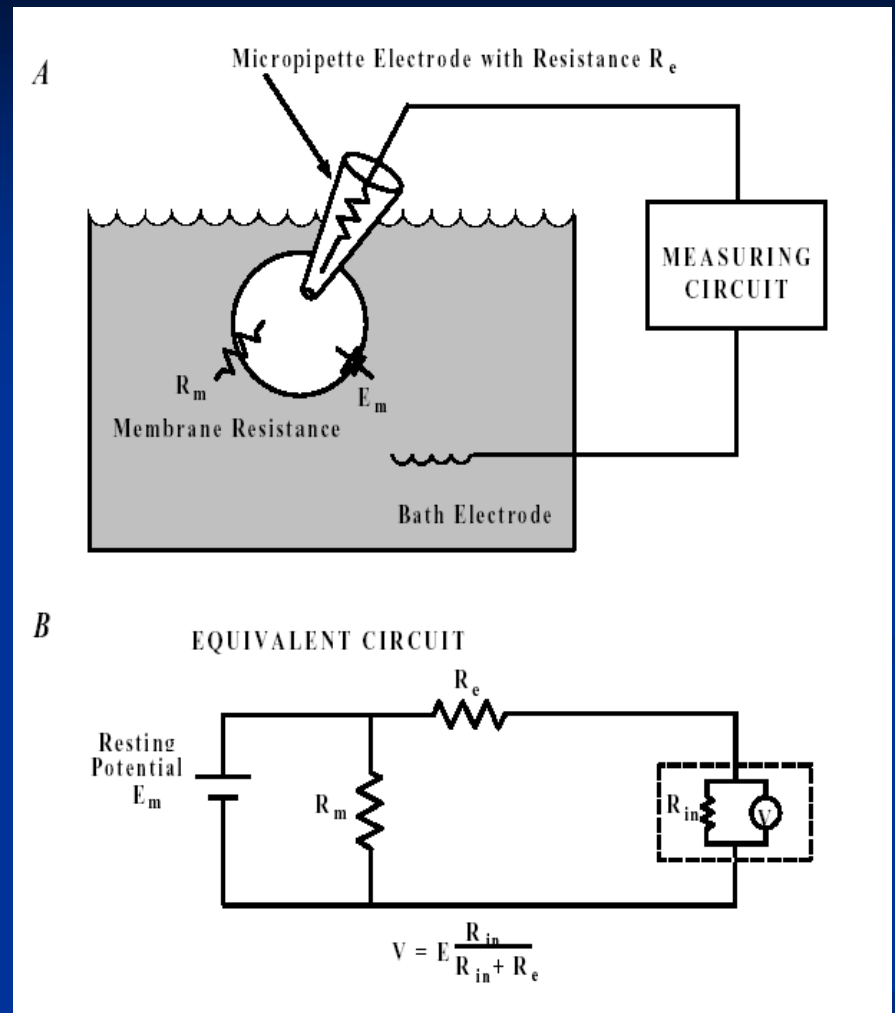
Types

- Solid metal -> Tungsten microelectrodes
- Supported metal (metal contained within/outside glass needle)
- Glass micropipette -> with Ag-AgCl electrode metal

Intracelluláris mikroelektród technika

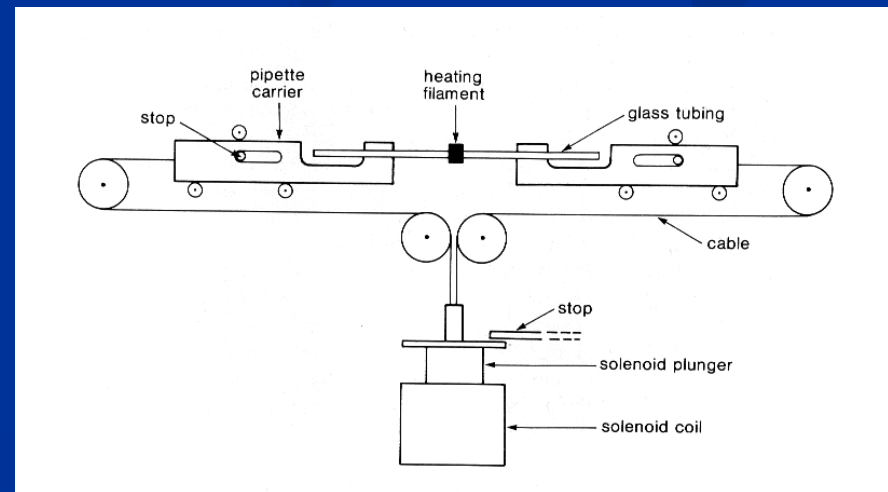
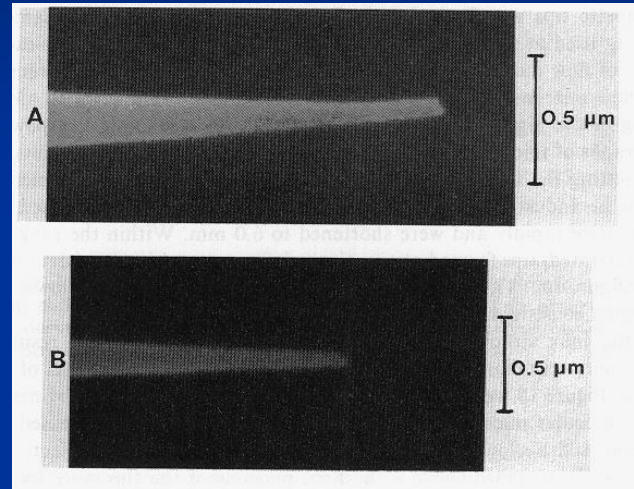


$$R_e \sim 10 - 40 \text{ M}\Omega$$



$$R_e \ll R_m$$
$$R_m \sim 10^{12} \text{ } \Omega$$

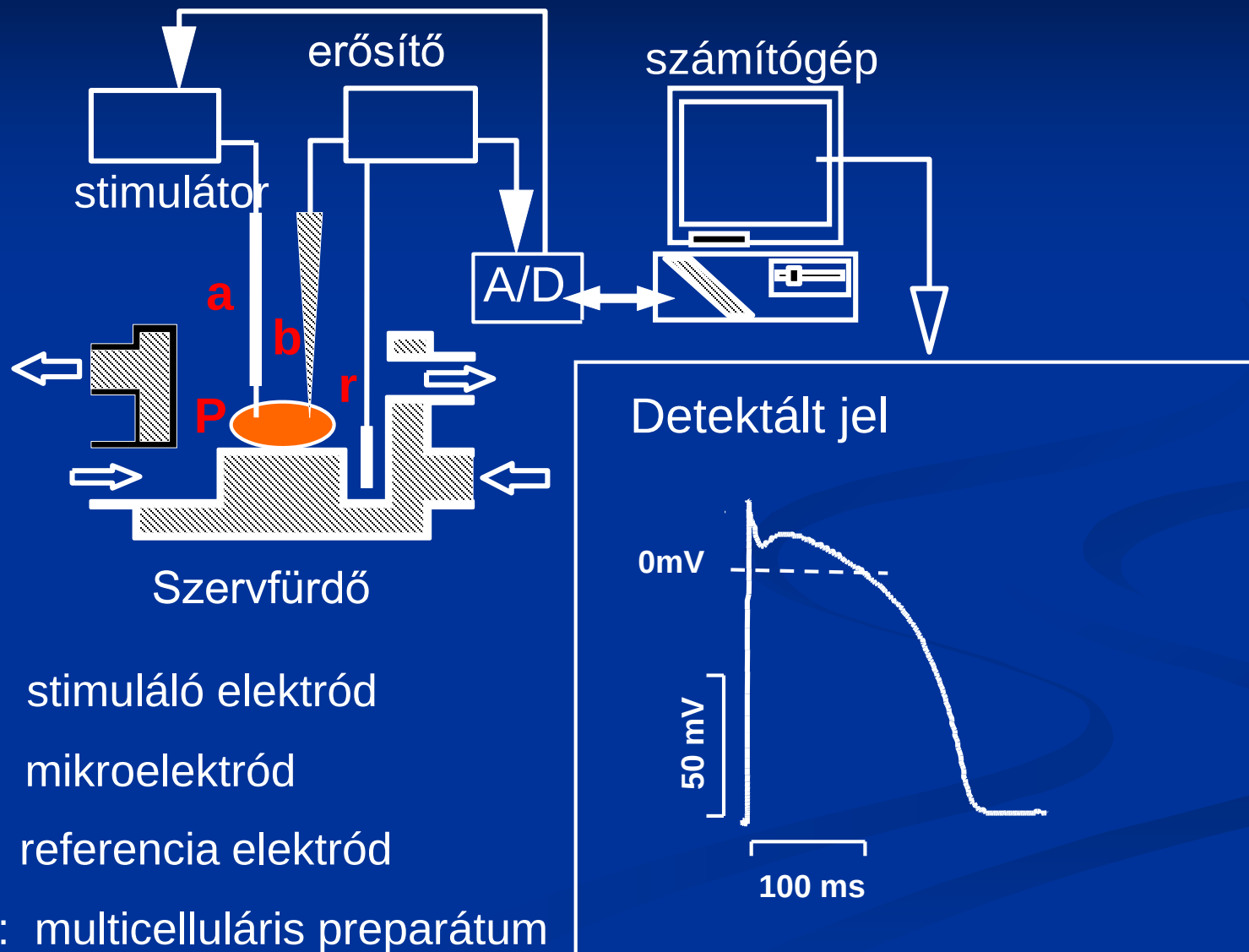
Mikroelektród készítése



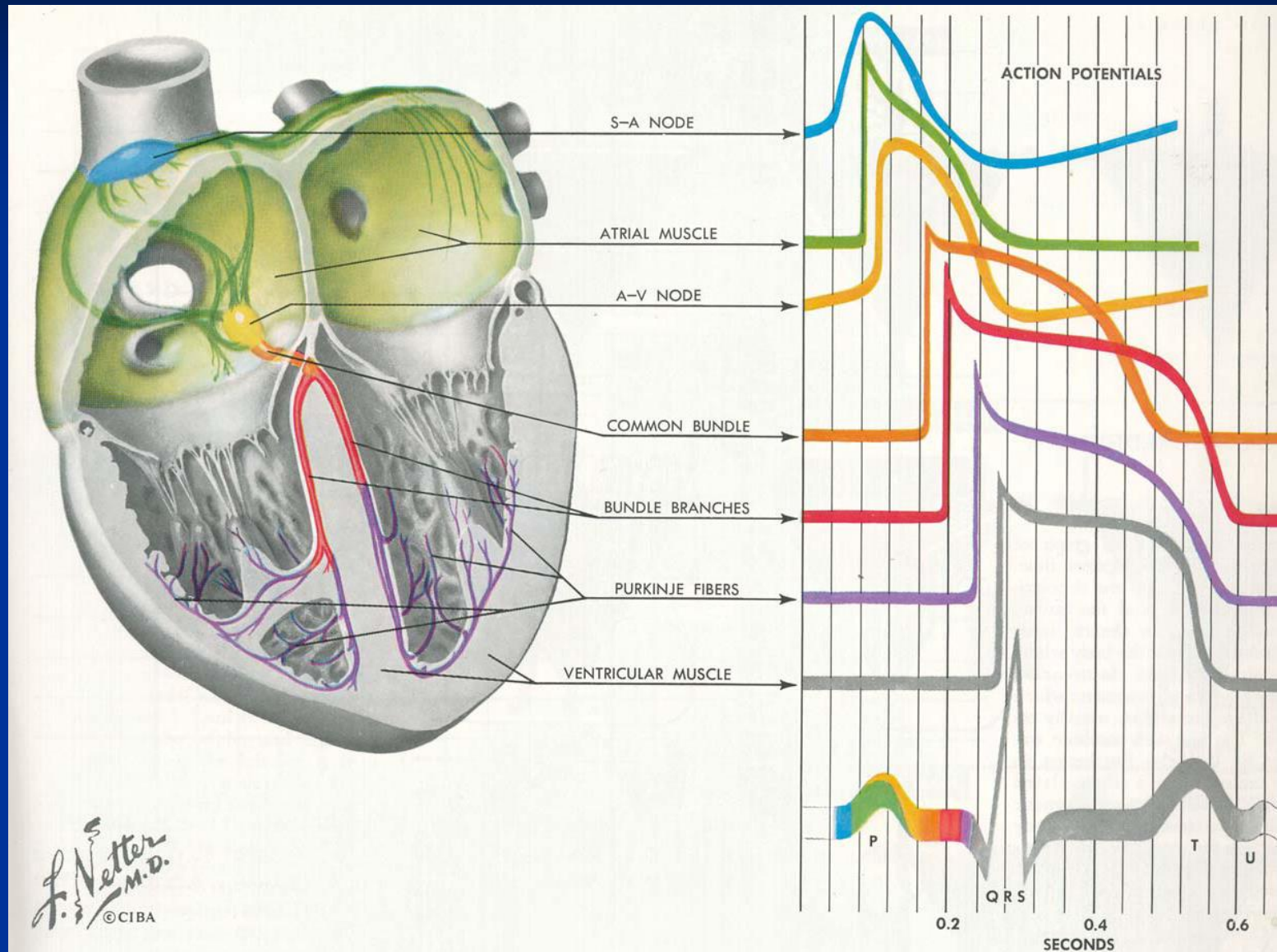
Mikroelektrod mérések 2.

Akciós potenciálok meghatározása konvencionális
(éles) mikroelektrodokkal

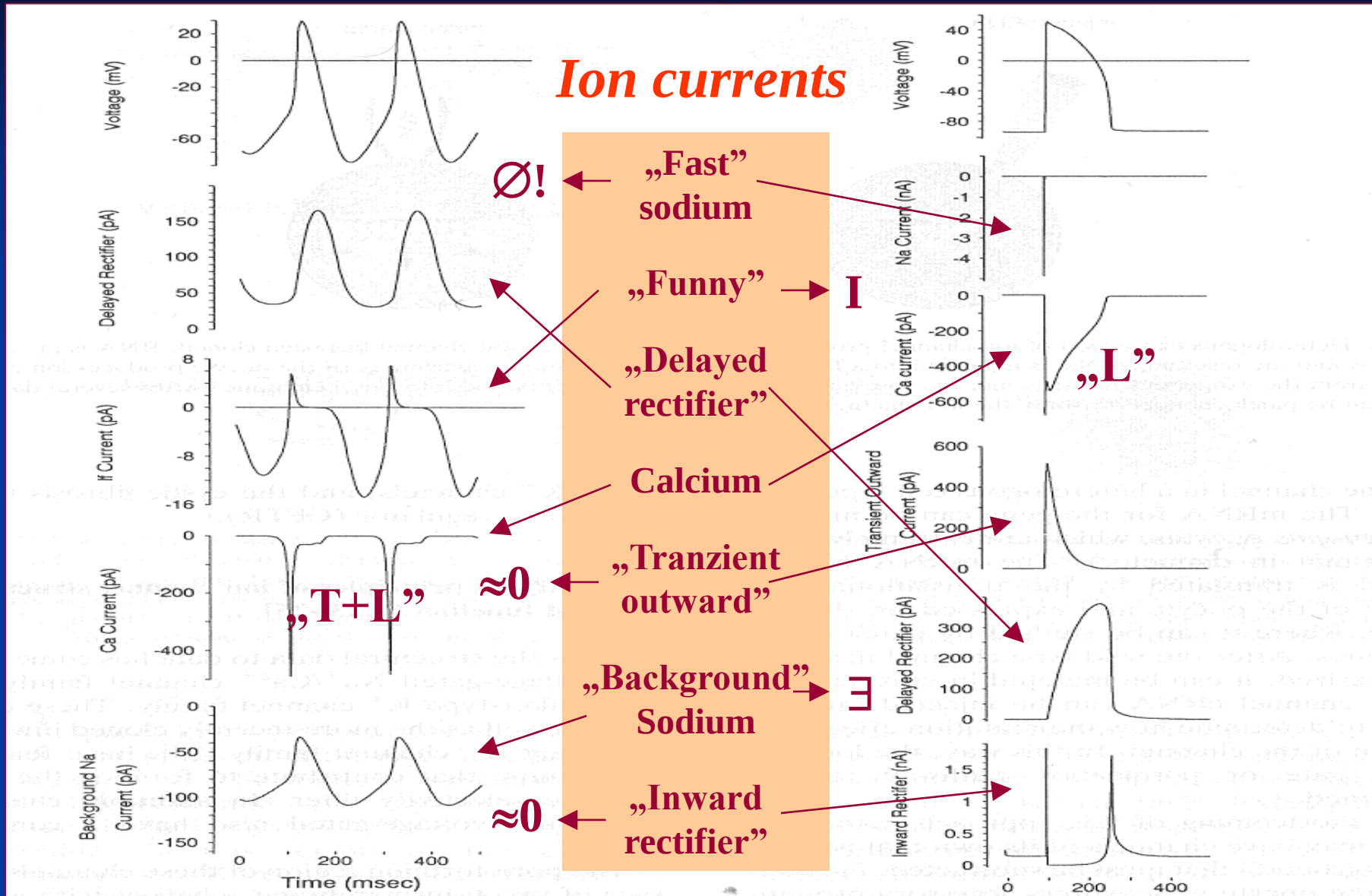
Mérőrendszer akciós potenciál mérésekhez



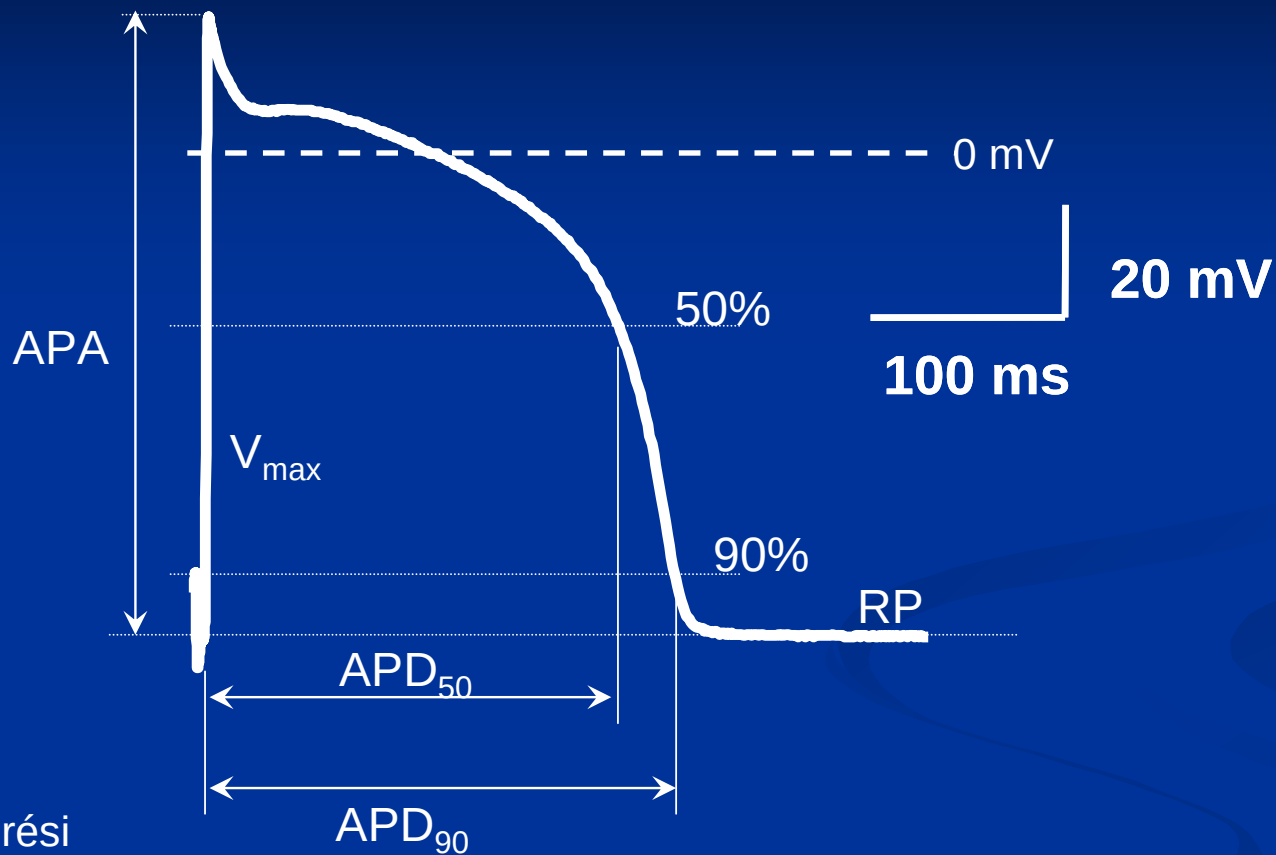
Az akciós potenciál morfológiájának regionális variabilitása szívsejtekben



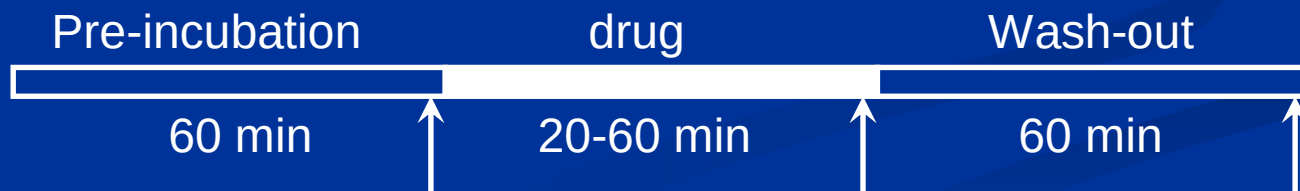
A szív AP-k morfológiai eltéréseinek “magyarázata”



A regisztrált AP-kból meghatározott legfontosabb paraméterek



Tipikus mérési
protokoll

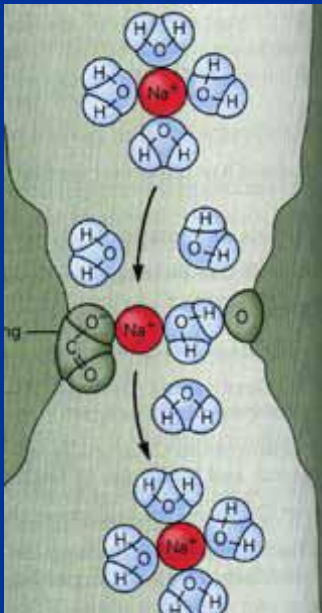
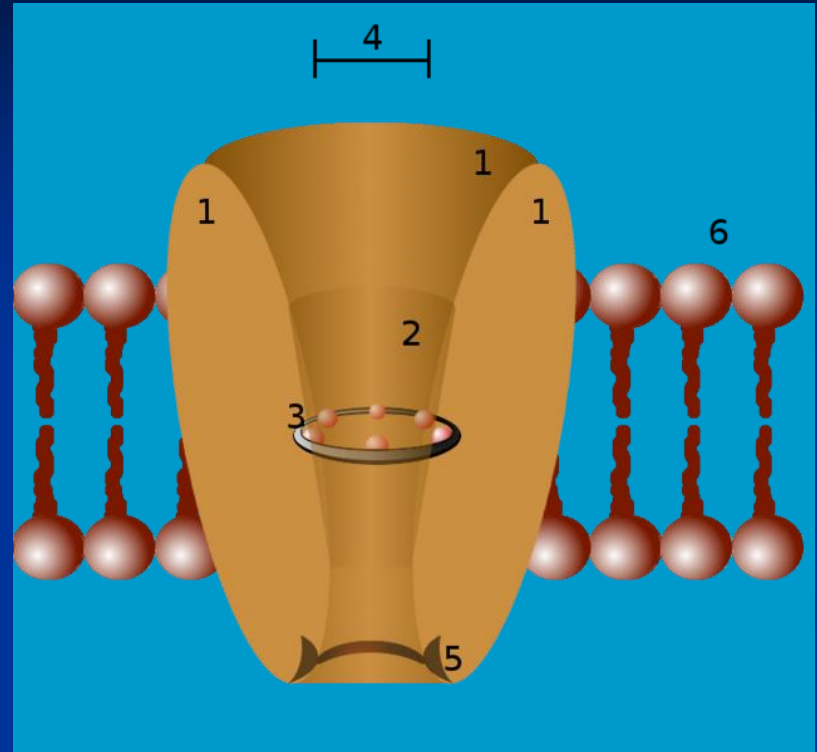


Mikroelektród mérések 3.

Transzmembrán ionáramok meghatározása „patch clamp” módszerrel

Egy ioncsatorna funkcionális szerkezete

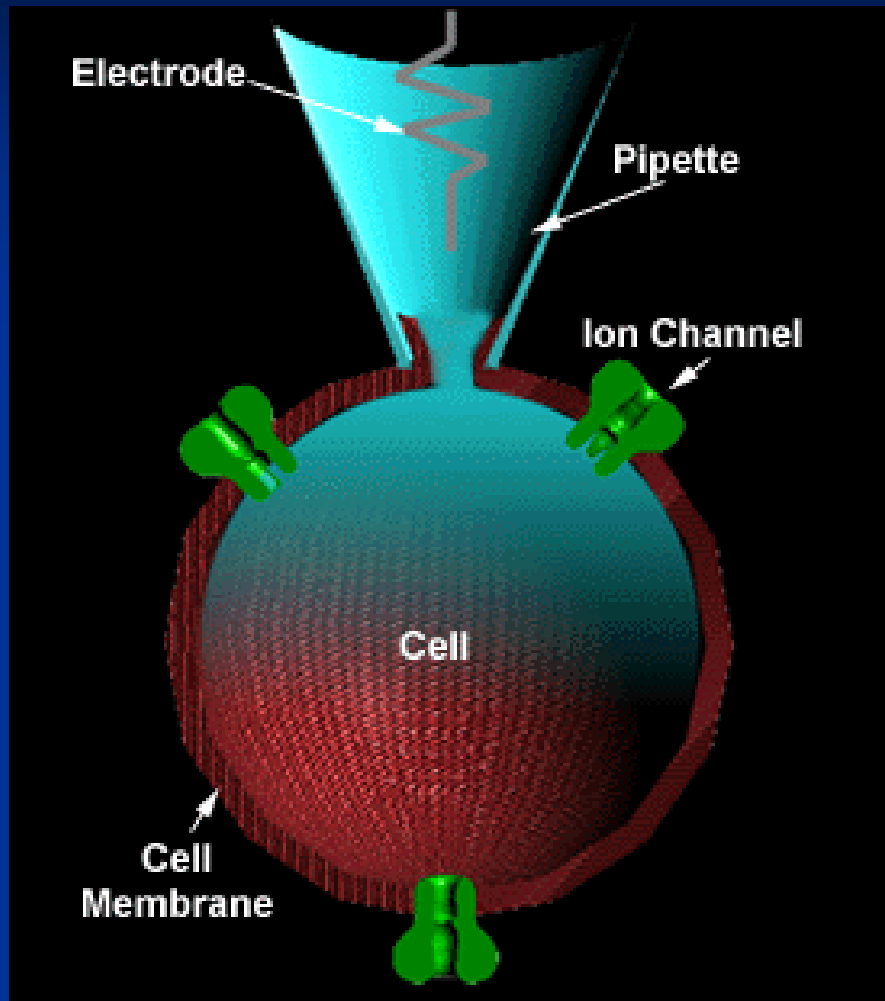
- 1 – csatorna domének
(tipikusan csatornánként 4 db)
- 2 – külső vesztibula
- 3 – „**szelektivitás szűrő**”
- 4 – a „szelektivitás szűrő”
átmérője
- 5 – foszforilációs hely
- 6 – sejtmembrán



Egy tipikus csatorna pórus a legszűkebb pontján csak egy-két atomnyi széles és szelektív a rá specifikus ionra (Na^+ , H^+ , K^+).

Ugyanakkor jónéhány ioncsatorna kevésbé szelektív és egynél több – azonos előjelű töltéssel rendelkező – ion számára is permeábilis lehet (azaz kation- vagy anion-szelektív)

A “patch clamp” technika alapelve

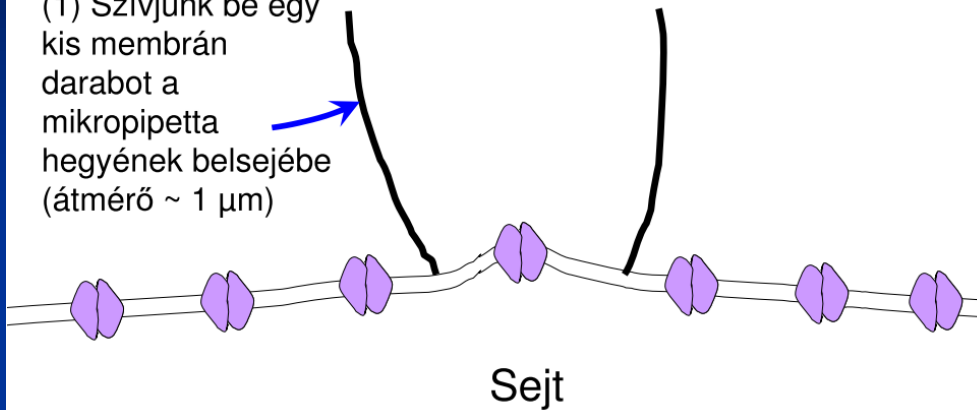


Szükséges hozzá

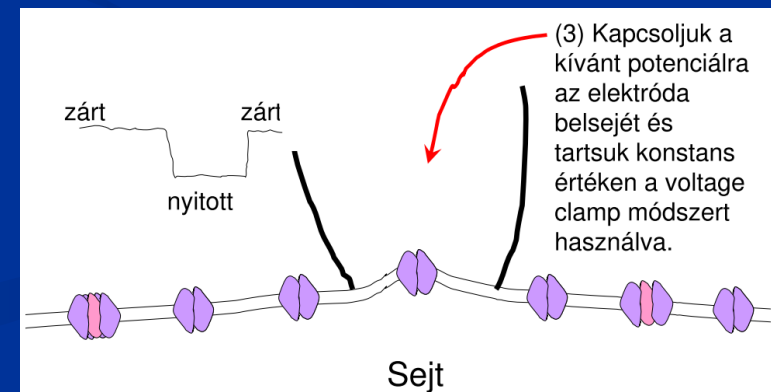
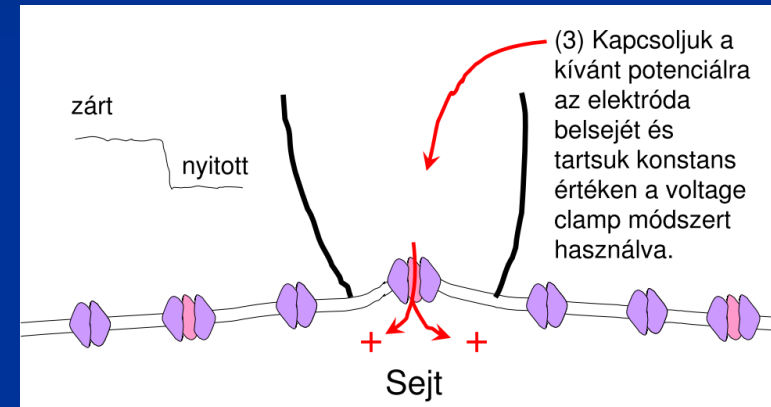
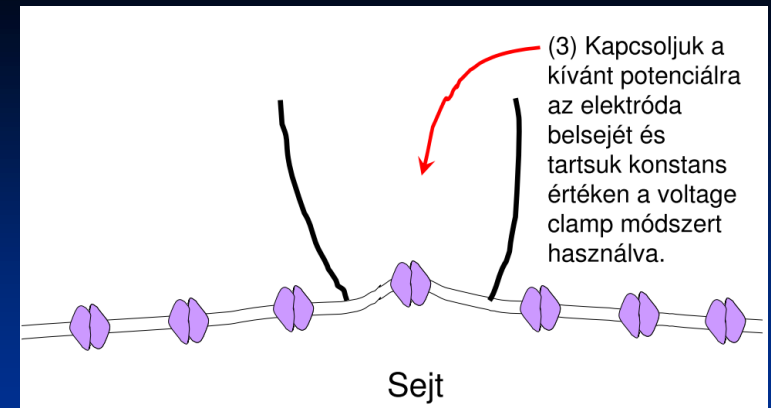
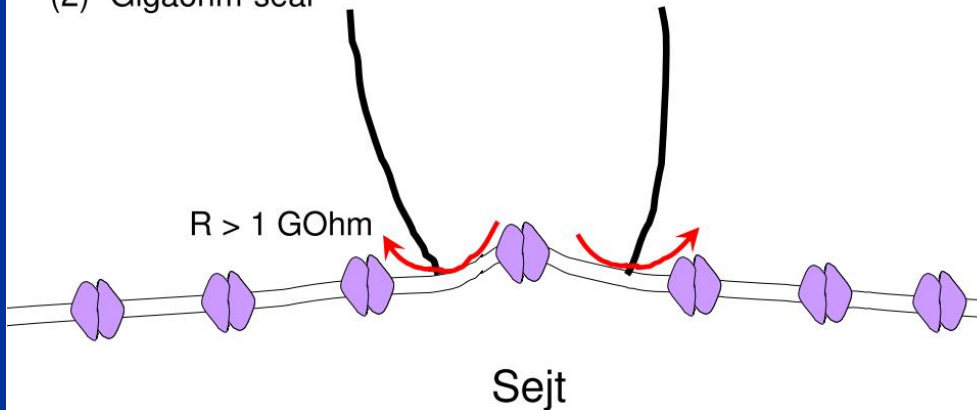
Pipetta + elektród
Speciális pipettaoldat
„Gigaseal” ($R > 1\text{GOhm}$)
Feszültségparancs
Árammérő elektronika

A "patch clamp" mérések lépései

(1) Szívjuk be egy kis membrán darabot a mikropipetta hegyének belsejébe (átmérő $\sim 1 \mu\text{m}$)



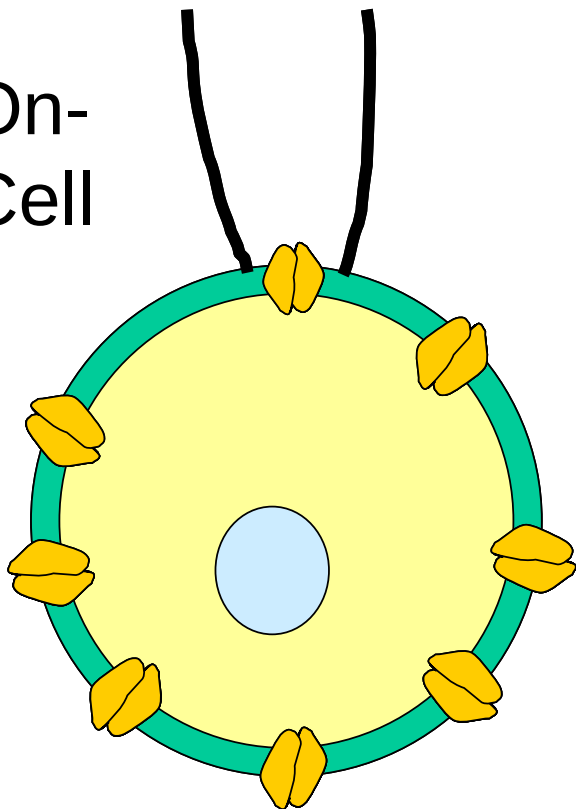
(2) "Gigaohm-seal"



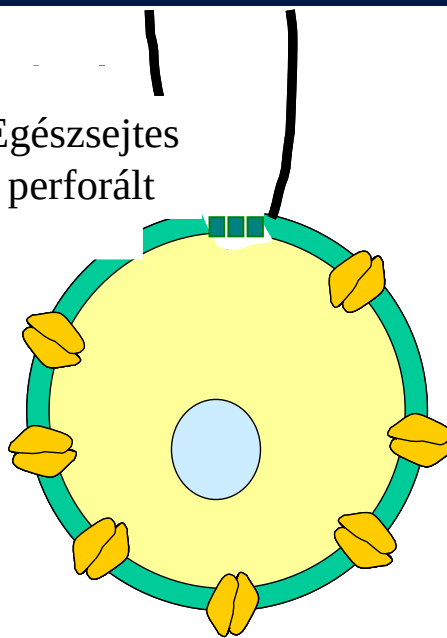
Leggyakrabban használt patch clamp konfigurációk

Cell-Attached

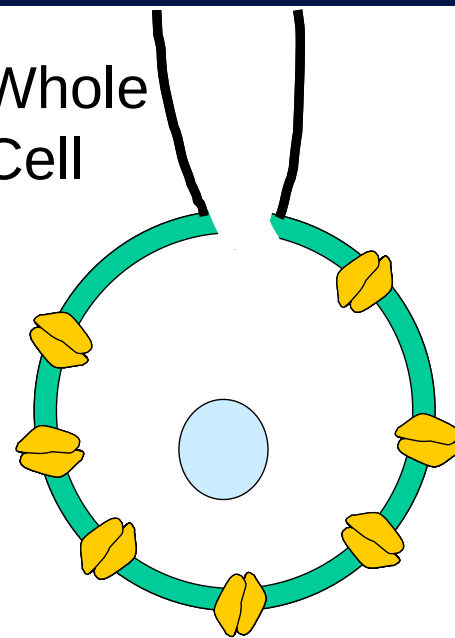
On-Cell



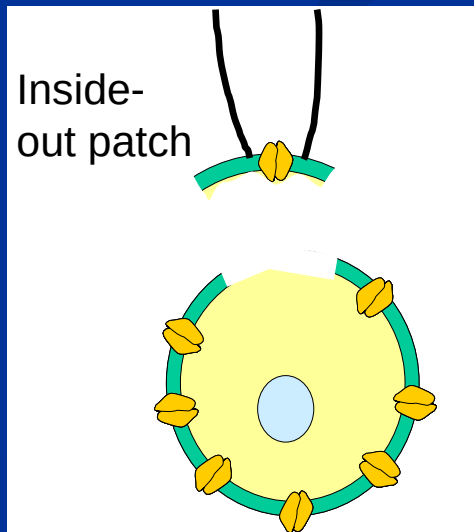
Egészsejtes
perforált



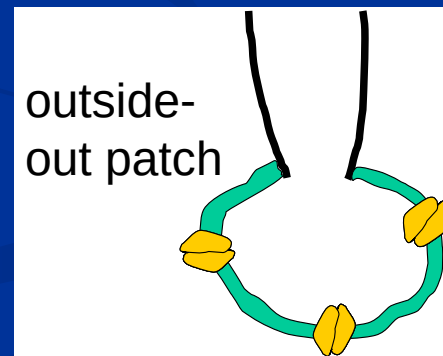
Whole
Cell



Inside-
out patch

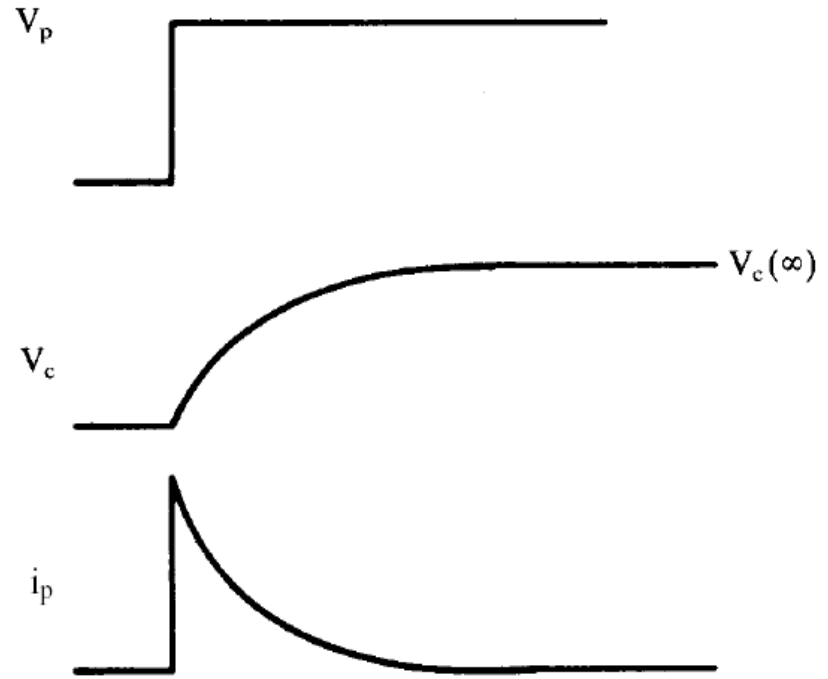
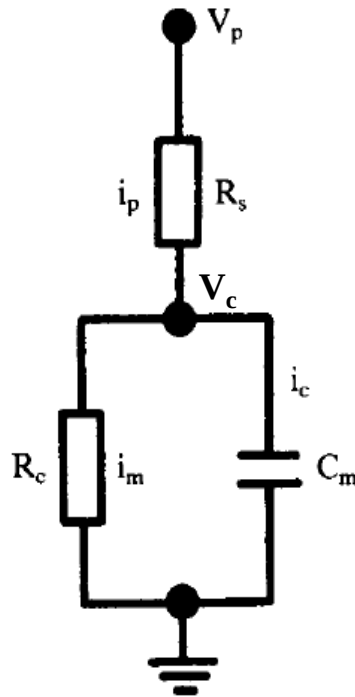
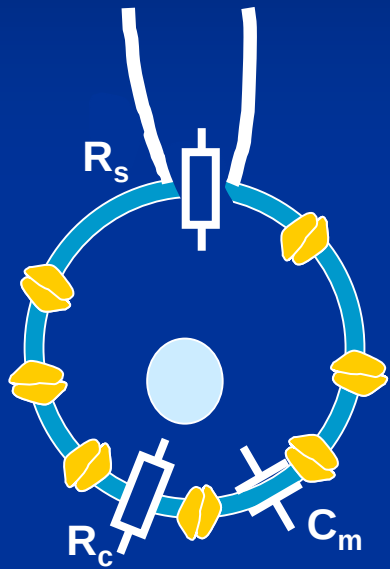


outside-
out patch



Vizsgálható: Egyetlen csatorna árama
Egy csatornatípus, vagy
csatornacsoport árama
Speciális pipettaoldal – IC ionmiliő
módosítása

A „whole cell” konfiguráció elektromos modellje



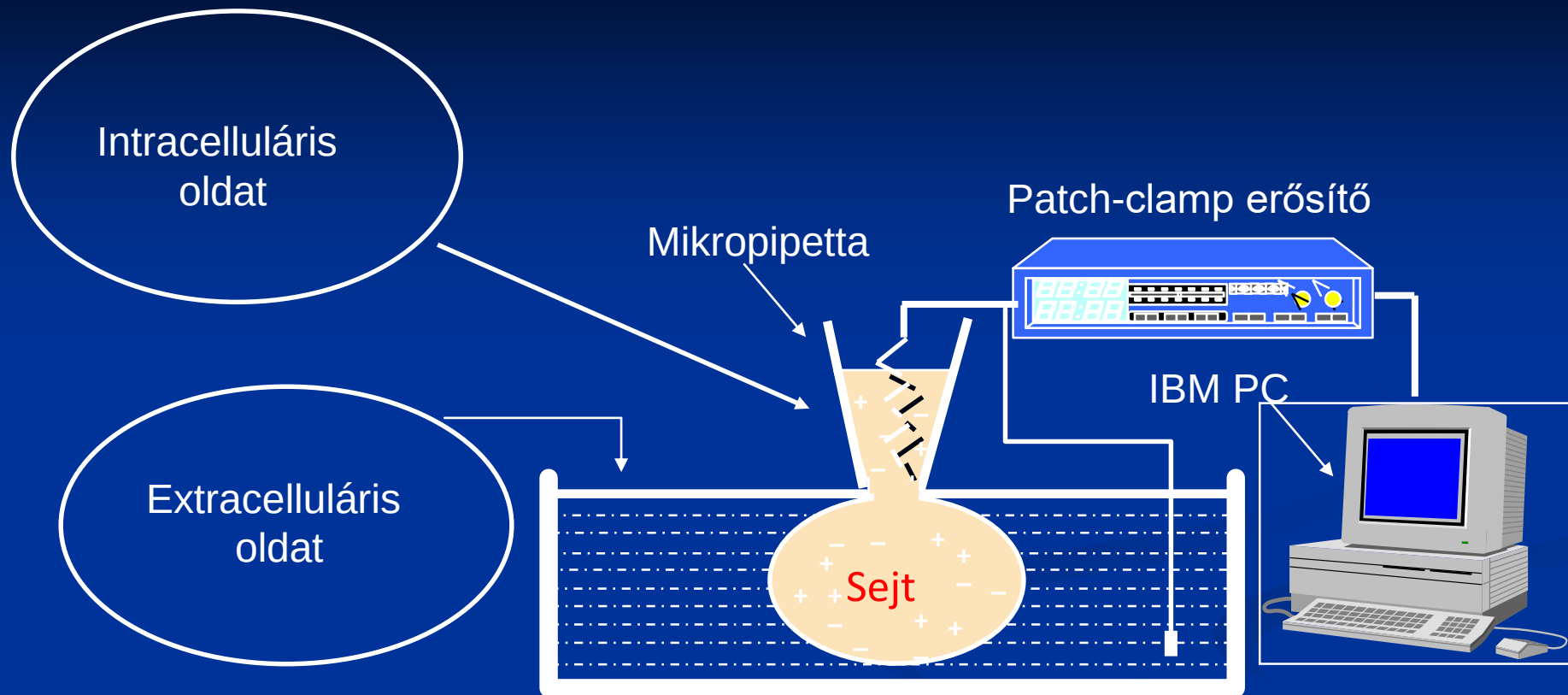
$$i_p = i_m + i_c$$

$$V_p - V_c = i_p R_s$$

$$V_c = V_p \frac{R_c}{R_c + R_s} (1 - e^{-t/\tau})$$

$$\tau = C_m \cdot R_s R_c / (R_s + R_c)$$

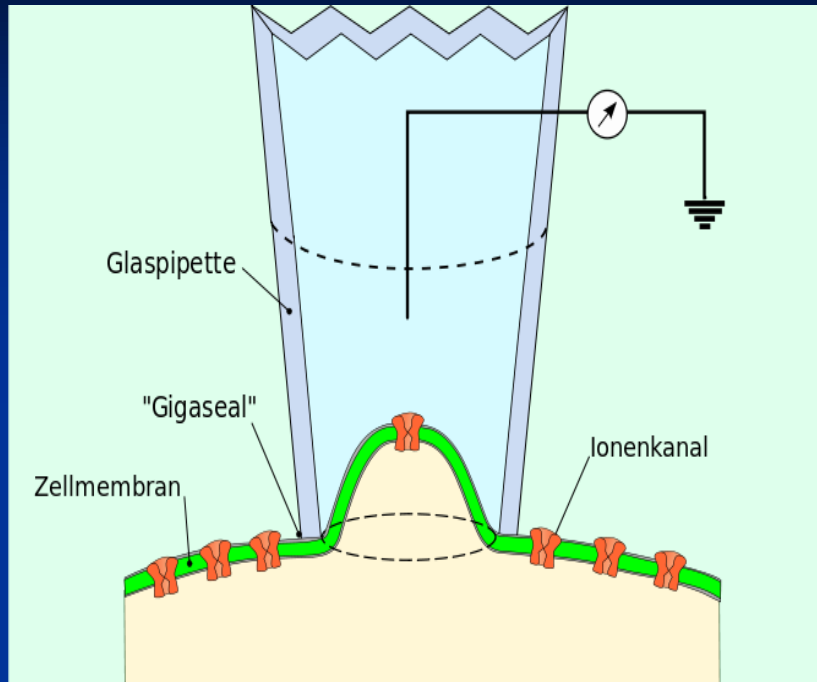
A mérőrendszer sémája



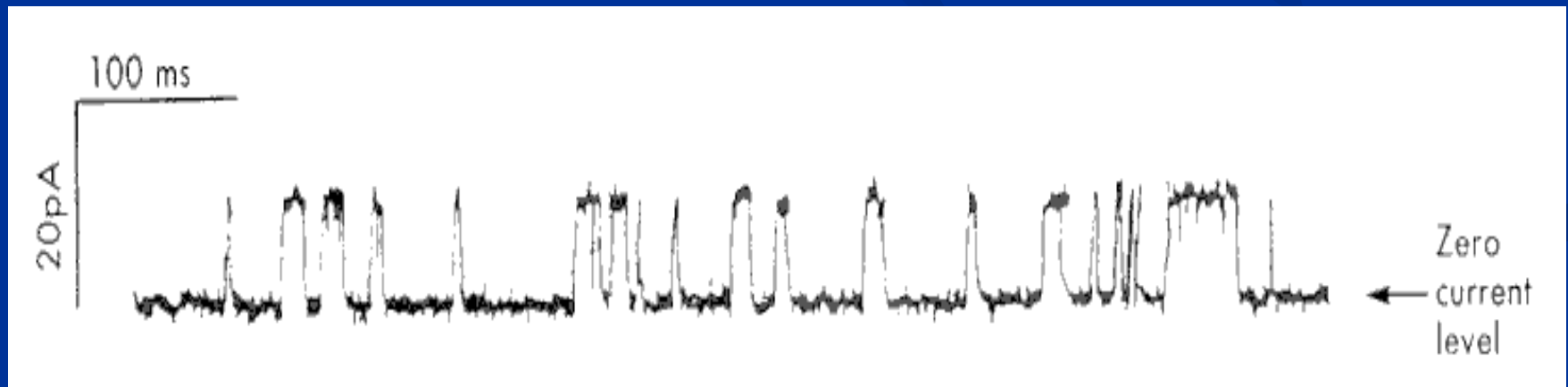
10 ms ... 5000 ms



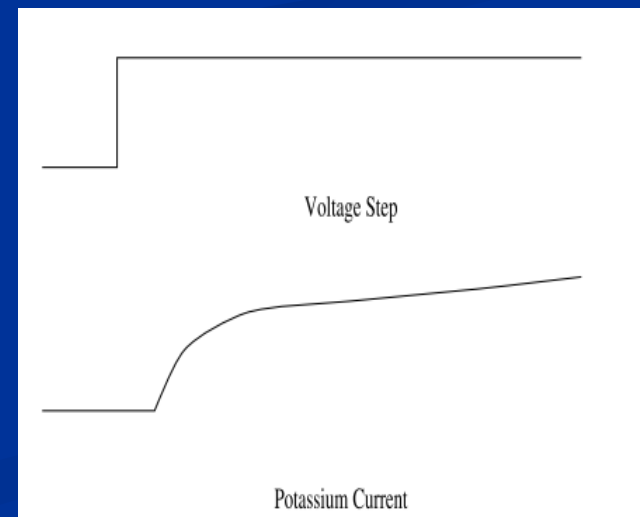
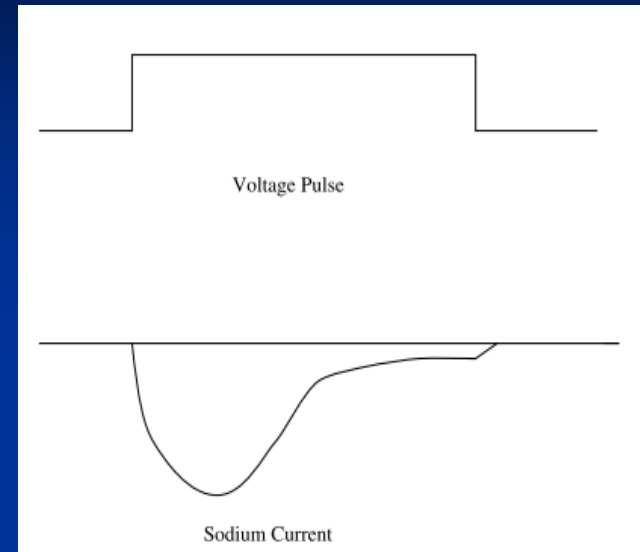
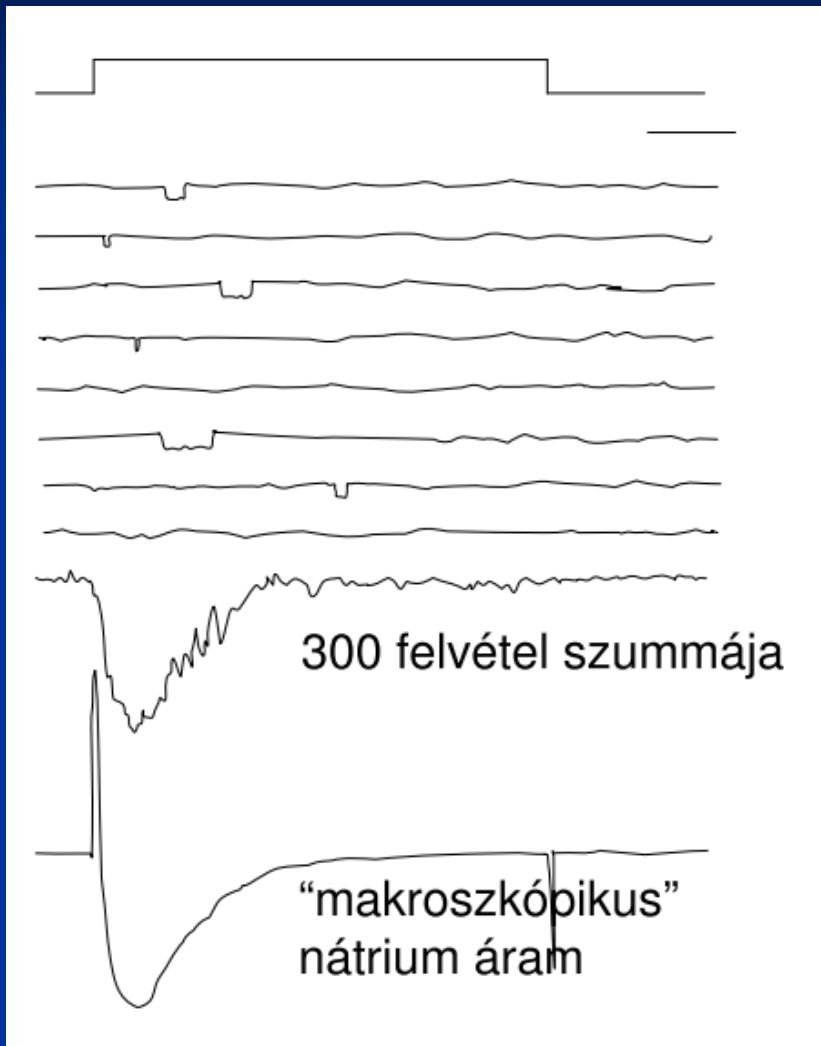
“Single channel” áram és meghatározása



1. Egyetlen csatorna vagy nyitott ,vagy zárt állapotban van.
2. A csatorna nyitott állapota rövid ideig tart a makroszkopikus áramhoz viszonyítva.
3. A nyitott állapot időtartama és latenciája nagyon változó. Előfordul, hogy egy csatorna egyáltalán nem nyílik ki.
4. Egyetlen csatorna nyitási valószínűségeloszlás függvénye hasonló a makroszkópikus áramhoz
5. A csatornák többször is kinyílnak, ha nincs inaktiváció

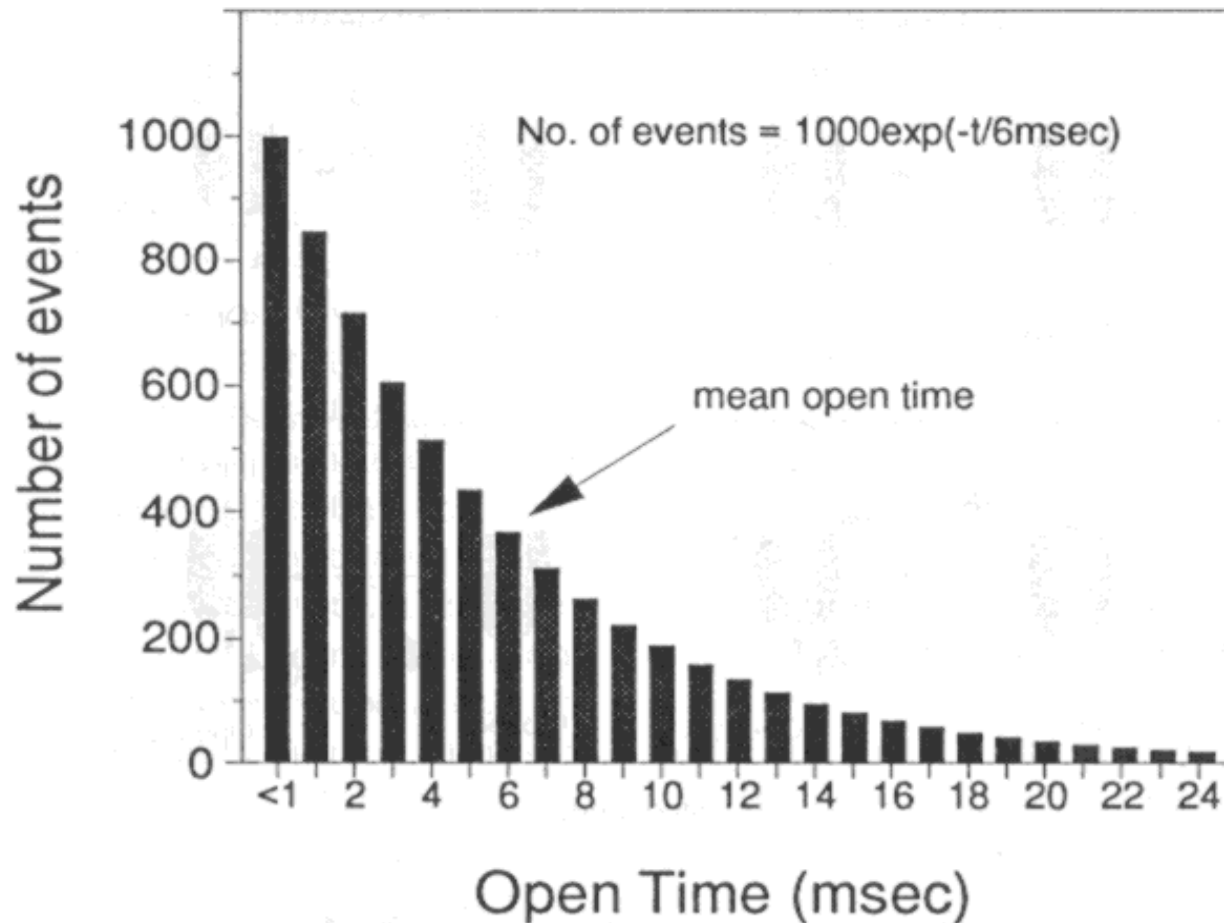


Sok feszültségfüggő Na^+ csatorna, illetve feszültségfüggő késleltetett K^+ csatorna integrált válasza feszültségugrásra



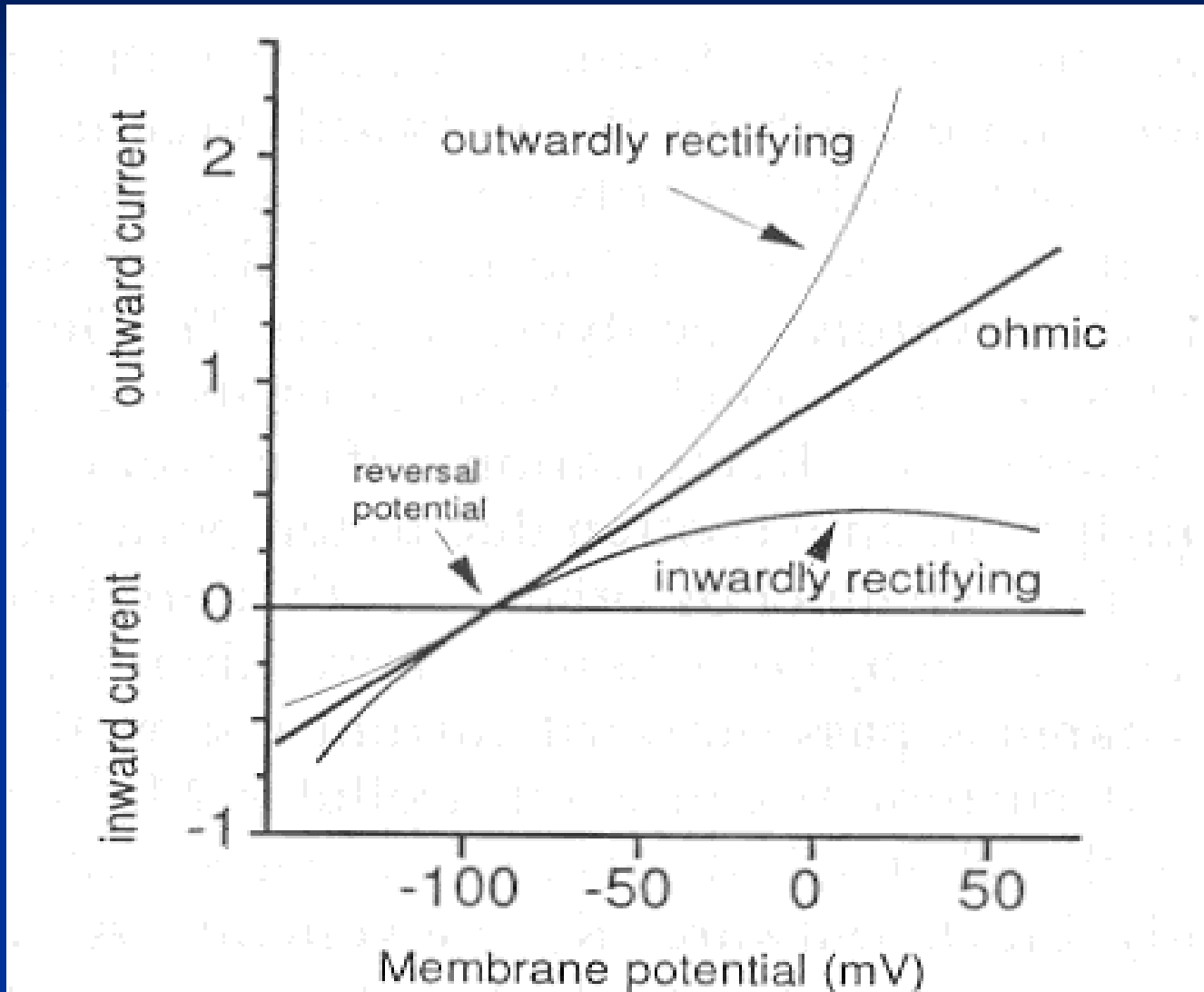
A Na^+ csatorna spontán inaktiválódik, a K^+ csatorna nem

Az átlagos nyitvatartási idő meghatározása



A csatorna modulációja az átlagos nyitvatartási idő változásában nyilvánul meg

„Inward”, illetve „outward” egyenirányító csatornák vezetési (feszültség-áram) karakterisztikája

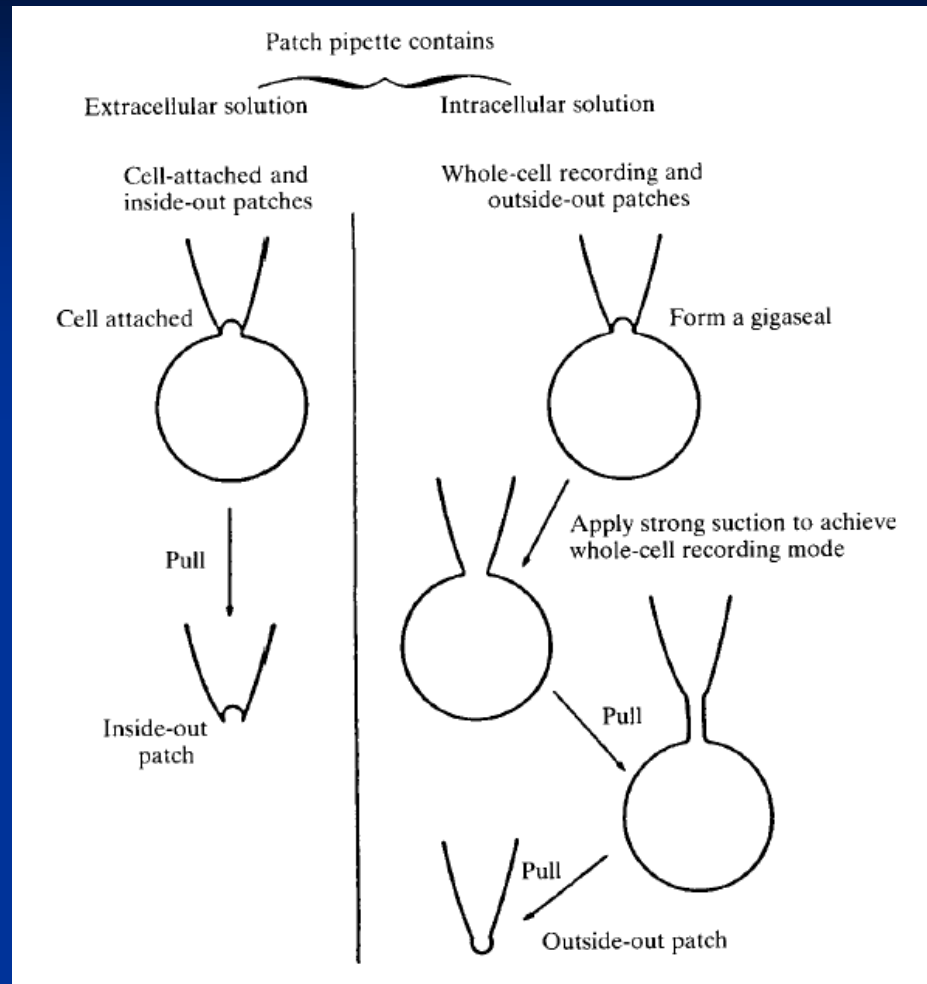


A „whole cell” konfiguráció alapelvei

Extracellular solution for K currents (mM)

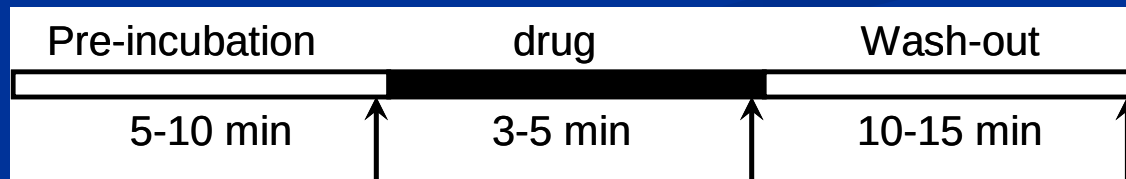
NaCl 144
NaH₂PO₄ 0.4
KCl 4
MgSO₄ 0.53
CaCl₂ 1.8
Glucose 5.5
HEPES 5
 +
I_{Ca} blocker

Tipikus mérési
protocol

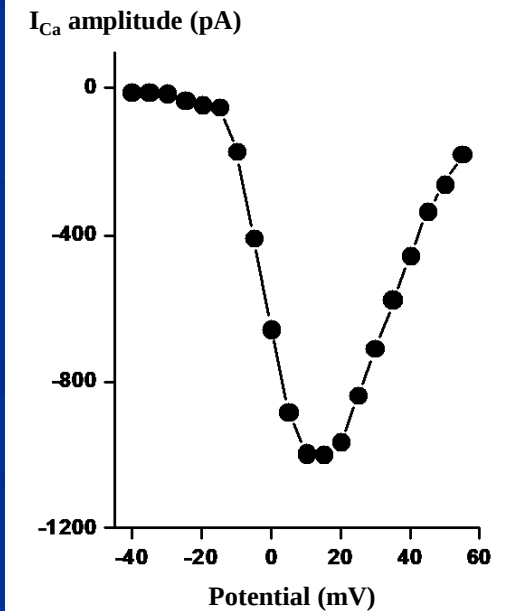
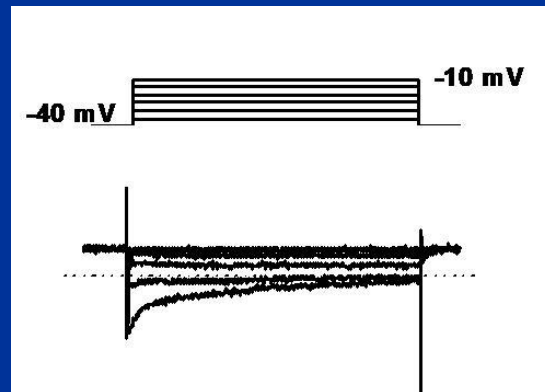
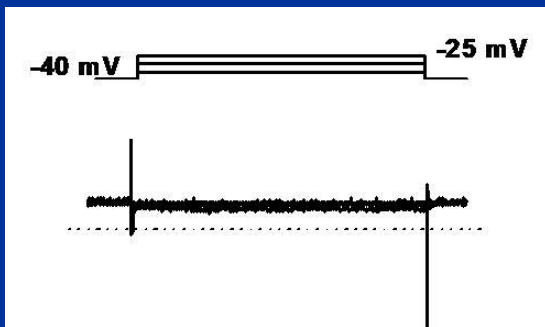
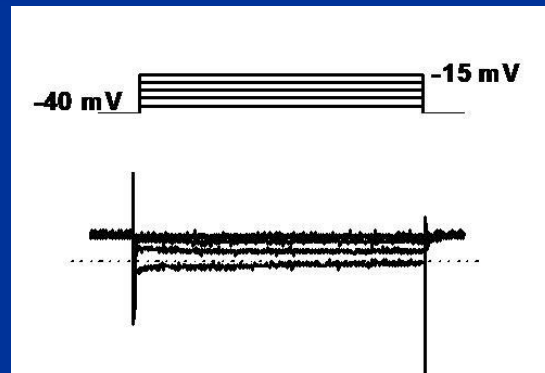
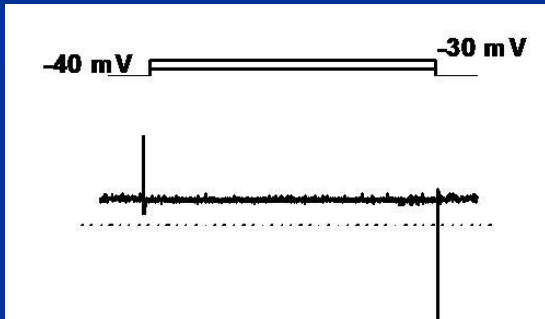
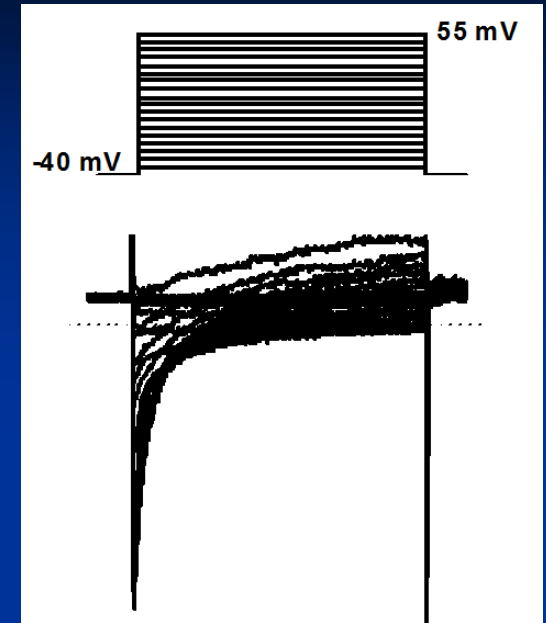
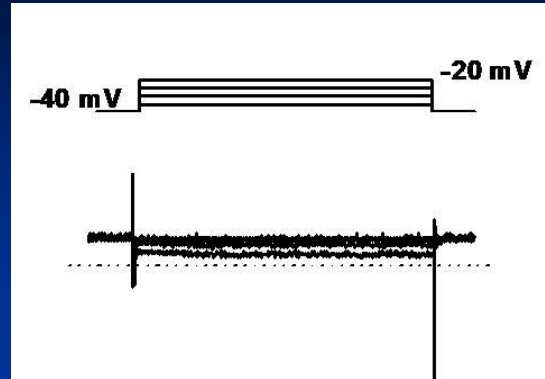
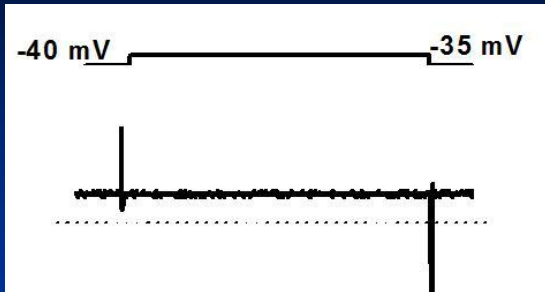


Intracellular solution for K currents (mM)

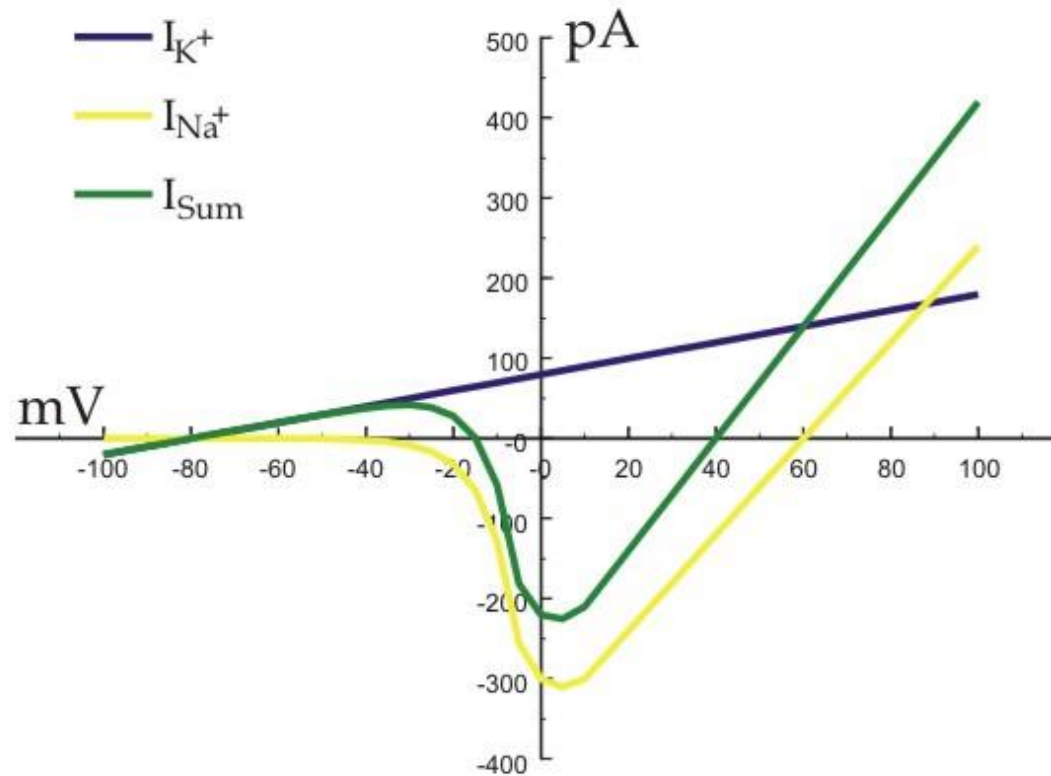
K-aspartate 100
KCl 25
K₂HPO₄ 10,
K₂EGTA 5
K₂ATP 3
MgCl₂ 1
HEPES 10



Az I-V összefüggés meghatározása a L-típusú Ca^{2+} csatornákra



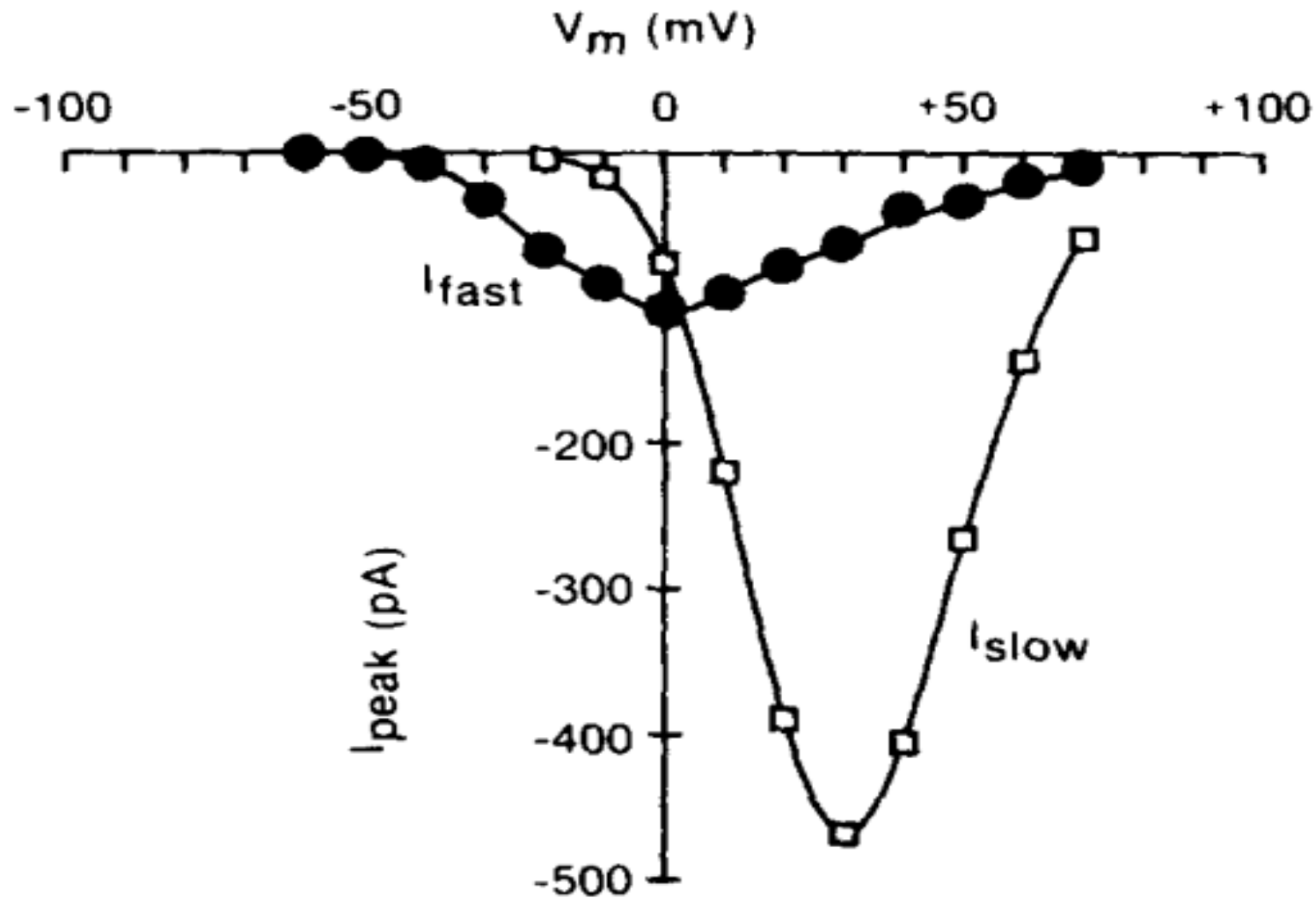
Két csatornacsoporthoz (Na^+ & K^+), illetve azok kombinációjának feszültség-áram karakterisztikája



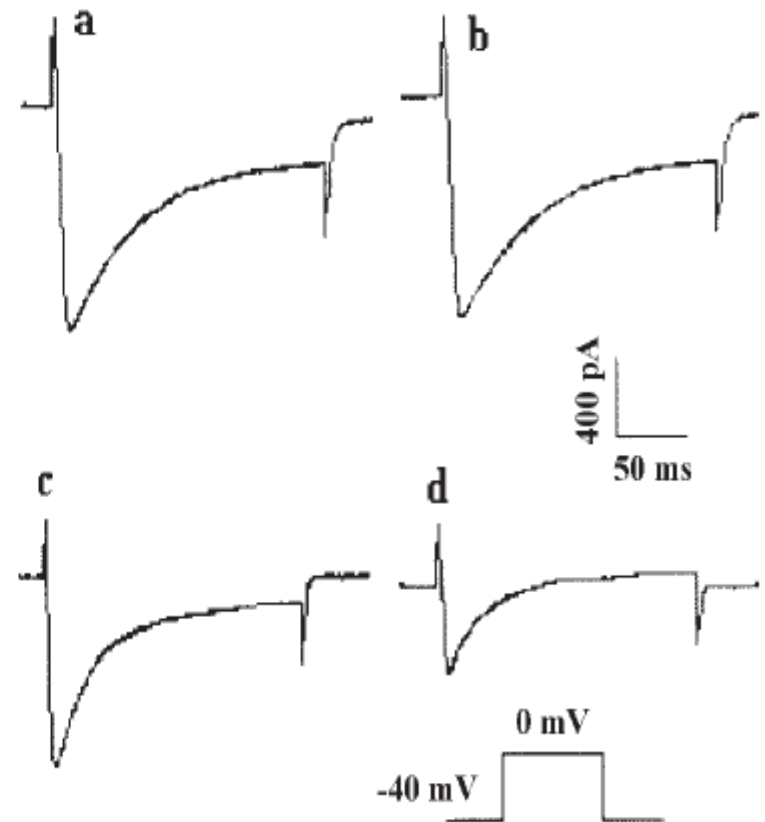
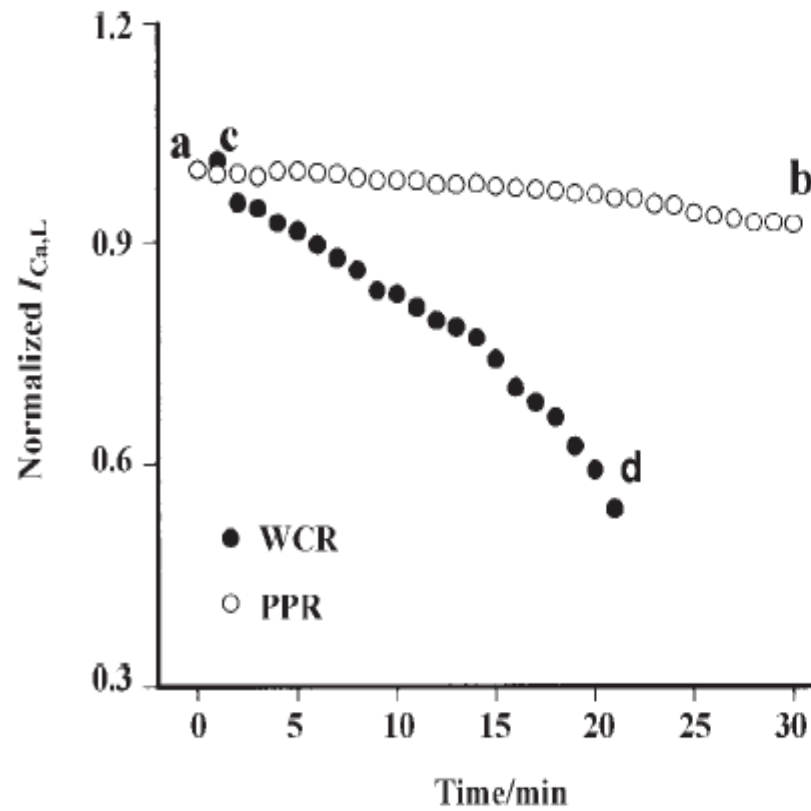
A K^+ áram lineáris, azaz nincsen feszültség-inaktiváció

A Na^+ áram nemlineáris a feszültség-inaktiváció miatt

Két ioncsatorna típus áram-feszültség összefüggése pitvarból
izolált sejtekben meghatározva

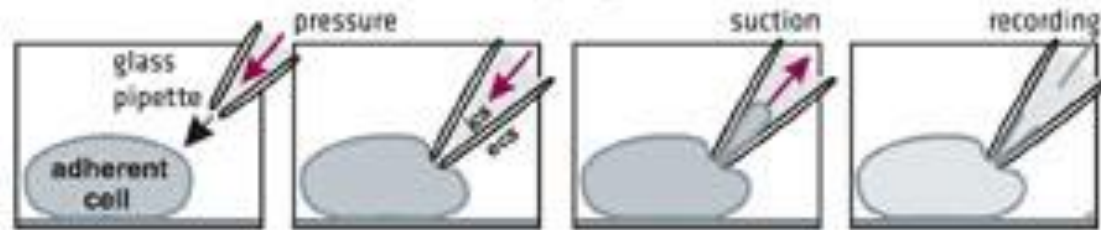


Az L-típusú Ca^{2+} áram “run-down” effektusa

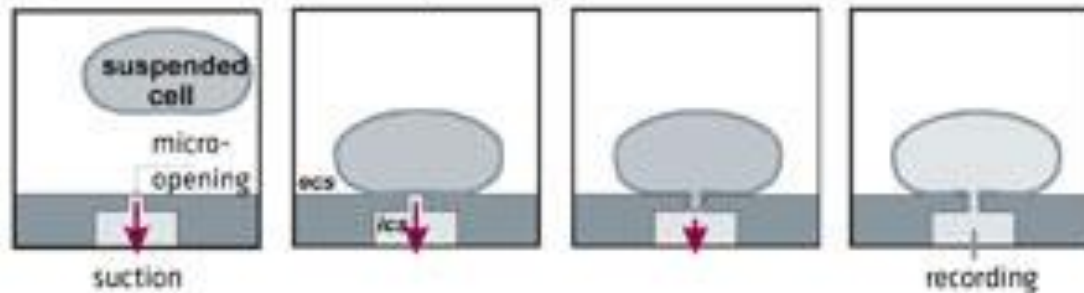


Automatizált “patch clamp” mérések alapelvei

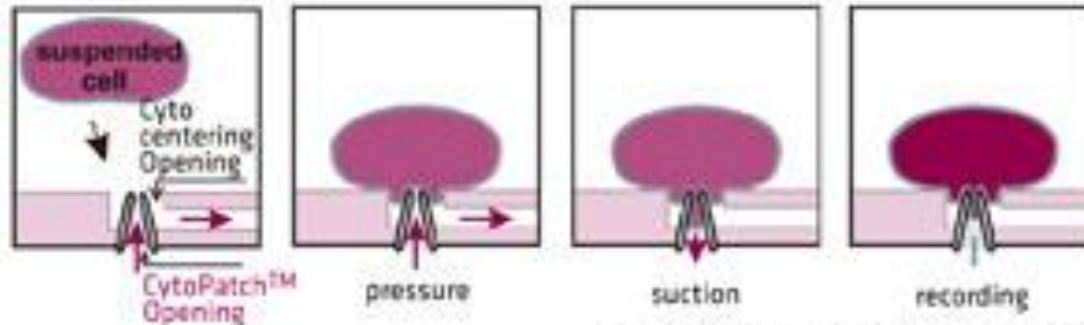
A.) Conventional Patch clamping



B.) Automated planar patch approach



C.) Automated CYTOCENTERING technique



(ecs intracellular solution, ecs extracellular solution)

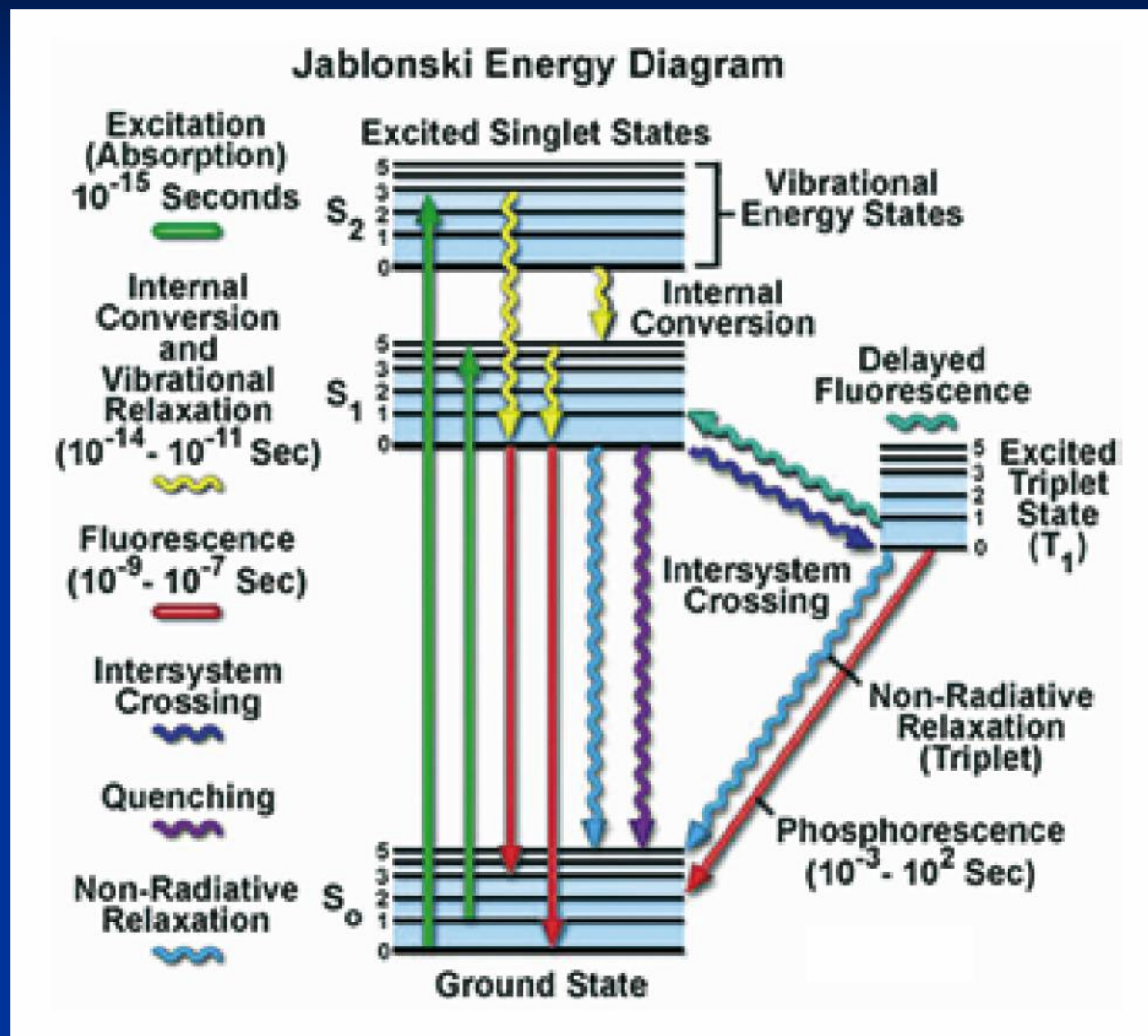
Optikai módszerek 1.

(Mérések fluoreszcens „tracer”-ekkel)

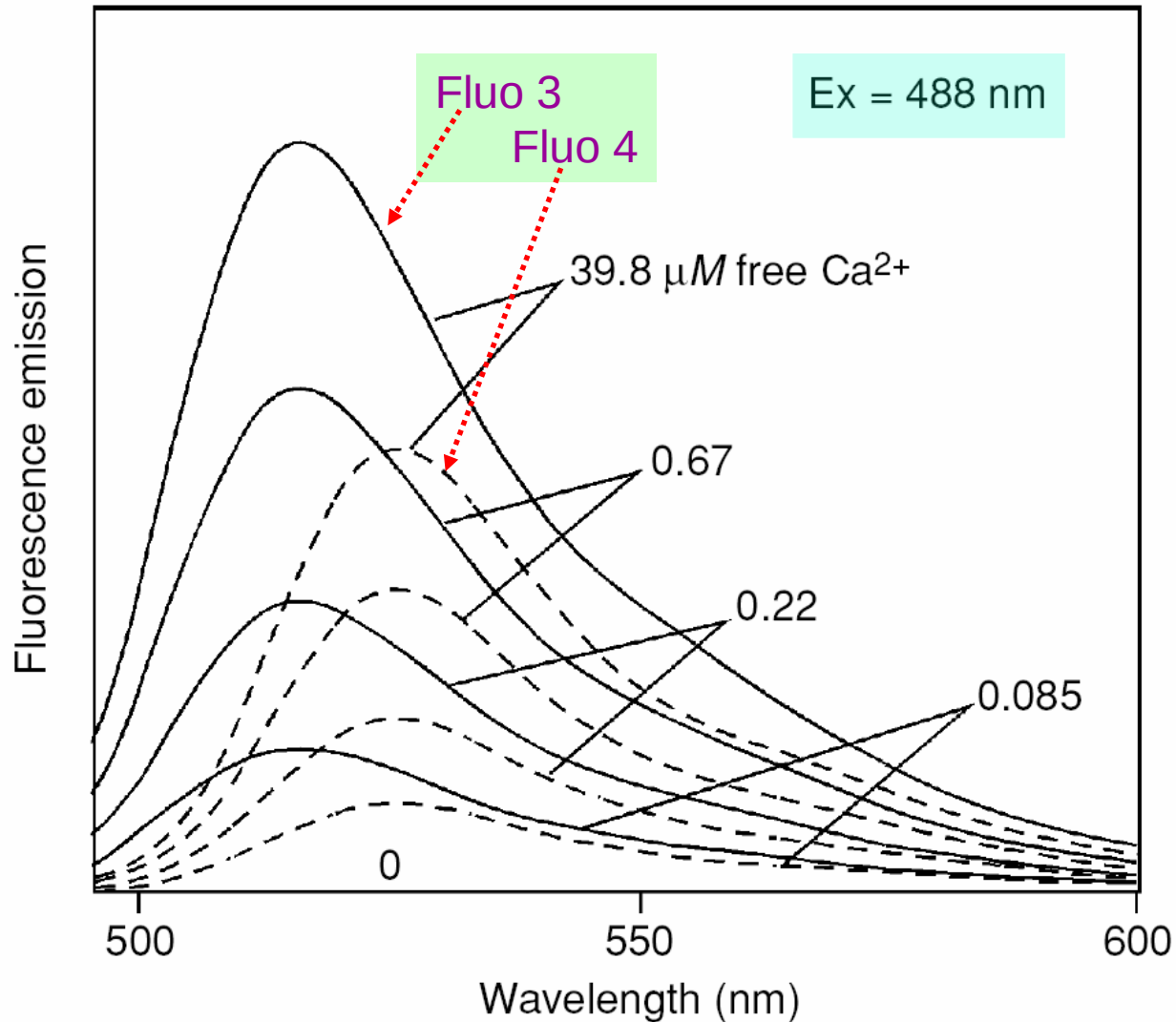
Metodikai háttér

- a. A fluoreszcencia alapelvei
- b. „Ion- & feszültség-függő” festékek
- c. Fluoreszcens mikroszkópia

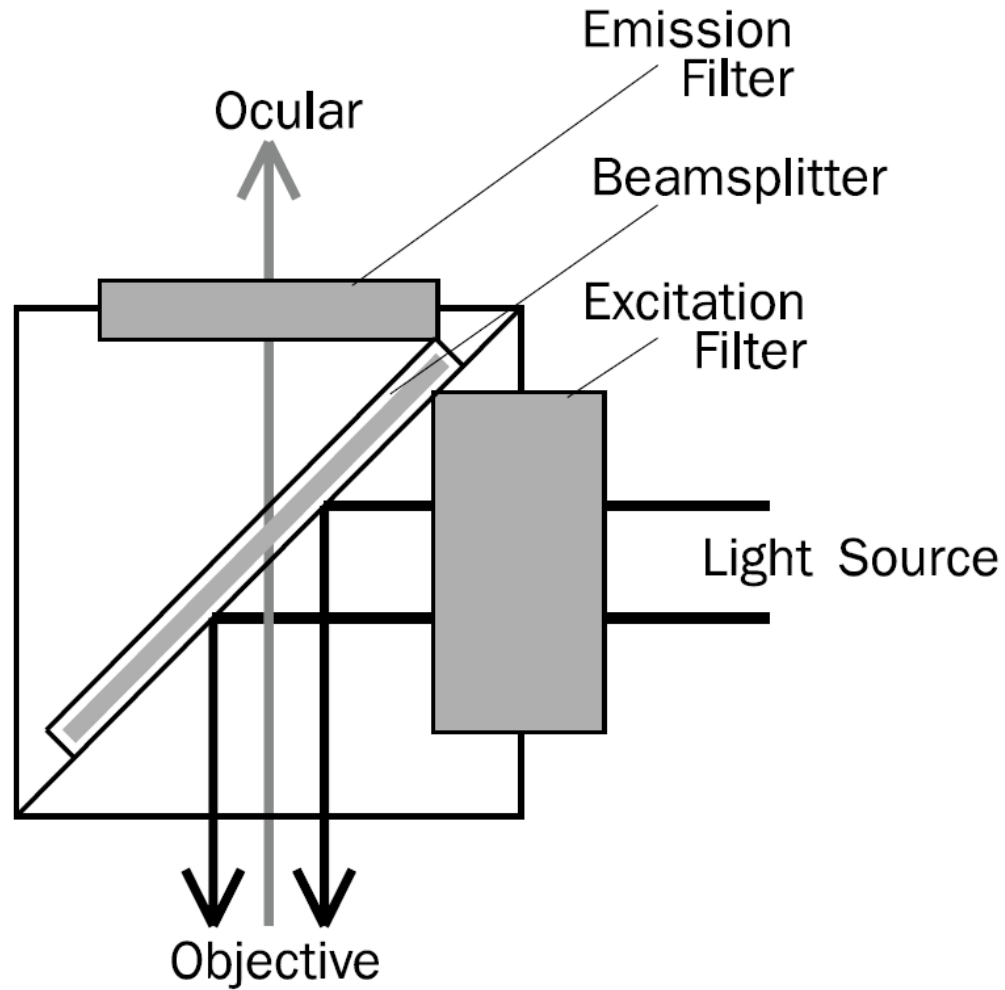
A fluoreszcencia és foszforeszcencia alapelvei



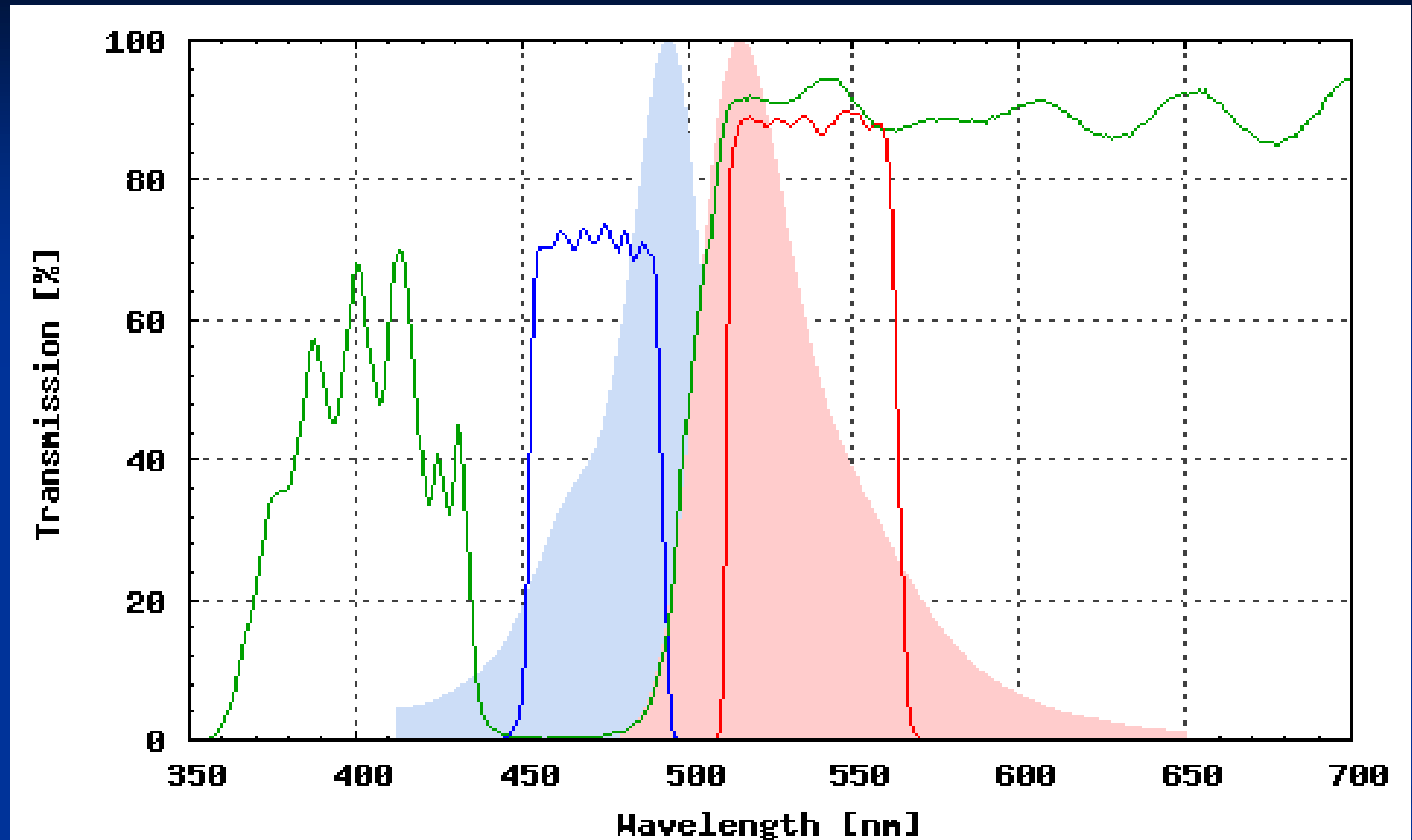
Két hasonló szerkezetű „nonratiometric” Ca^{2+} indikátor (Fluo 3 & Fluo 4) emissziós spektruma



Fluoreszcens filter kocka sémája



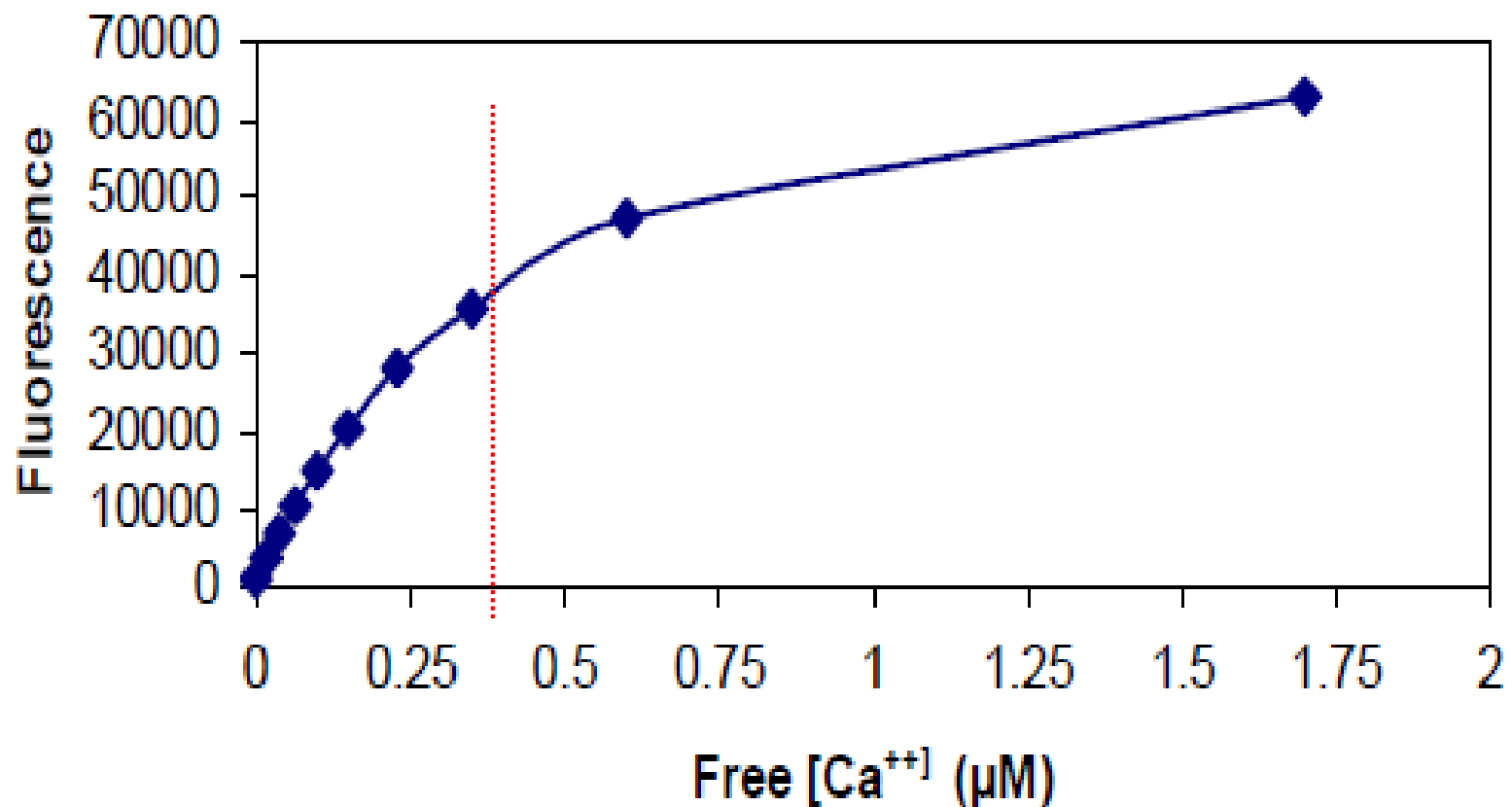
Fluo 4 fluoreszcencia mérés alapelve



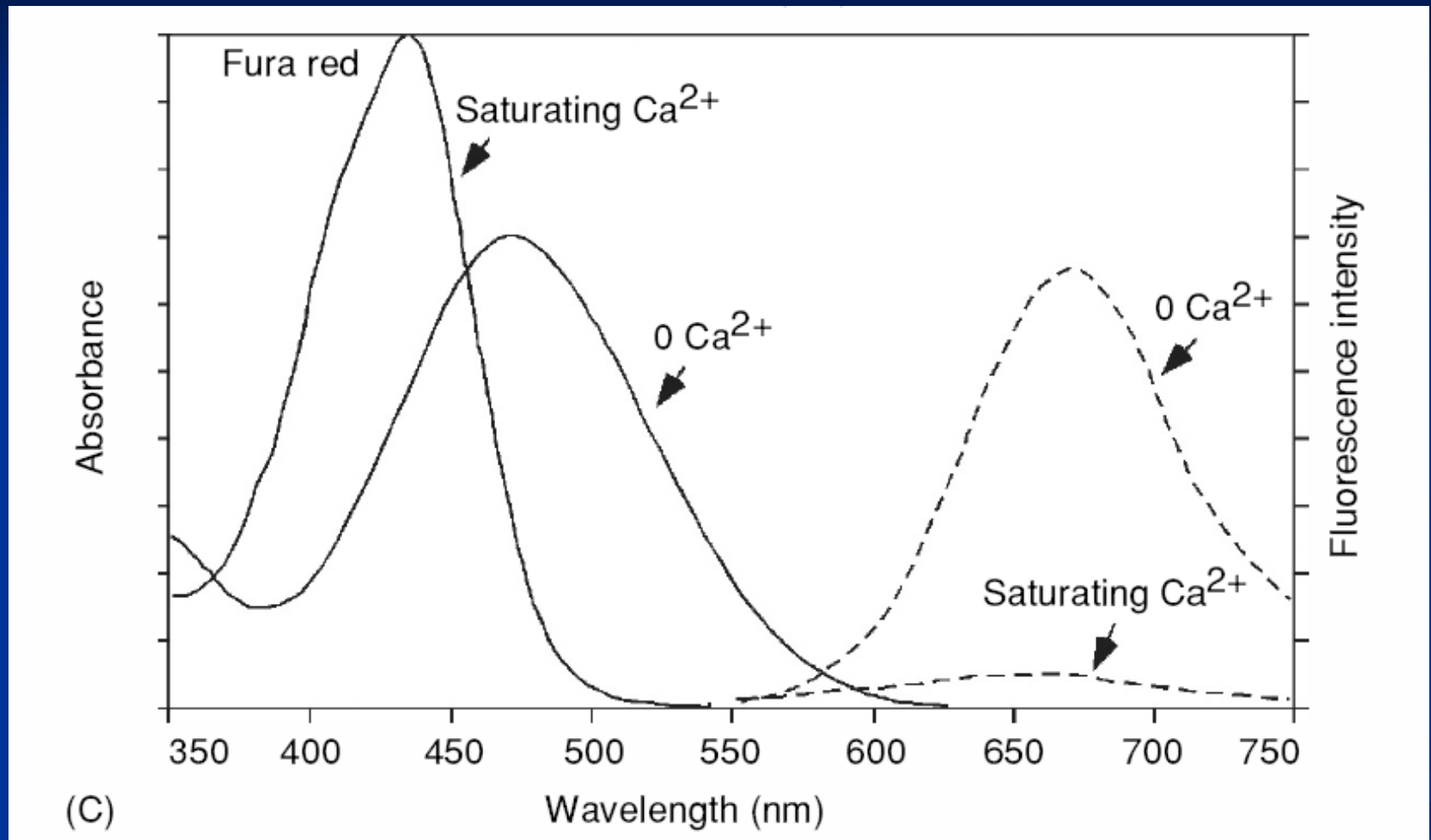
Fluo-4 festék excitációs (kék mező) & emissziós (rózsaszín mező) spektruma. A kiválasztott excitációs (kék vonal) & emissziós (piros vonal) interferencia szűrők, illetve „beam splitter” (dikroikus tükör) (zöld vonal) segítségével a mérés jel/zaj viszonya az általánosan használt mikroszkóp konfigurációban történő fluoreszcencia mérés során optimalizálható.

A Fluo 4 fluoreszcencia relatív intenzitása a szabad Ca^{2+} koncentráció függvényében

Fluo-4 Fluorescence vs. Free Ca^{++} Concentration

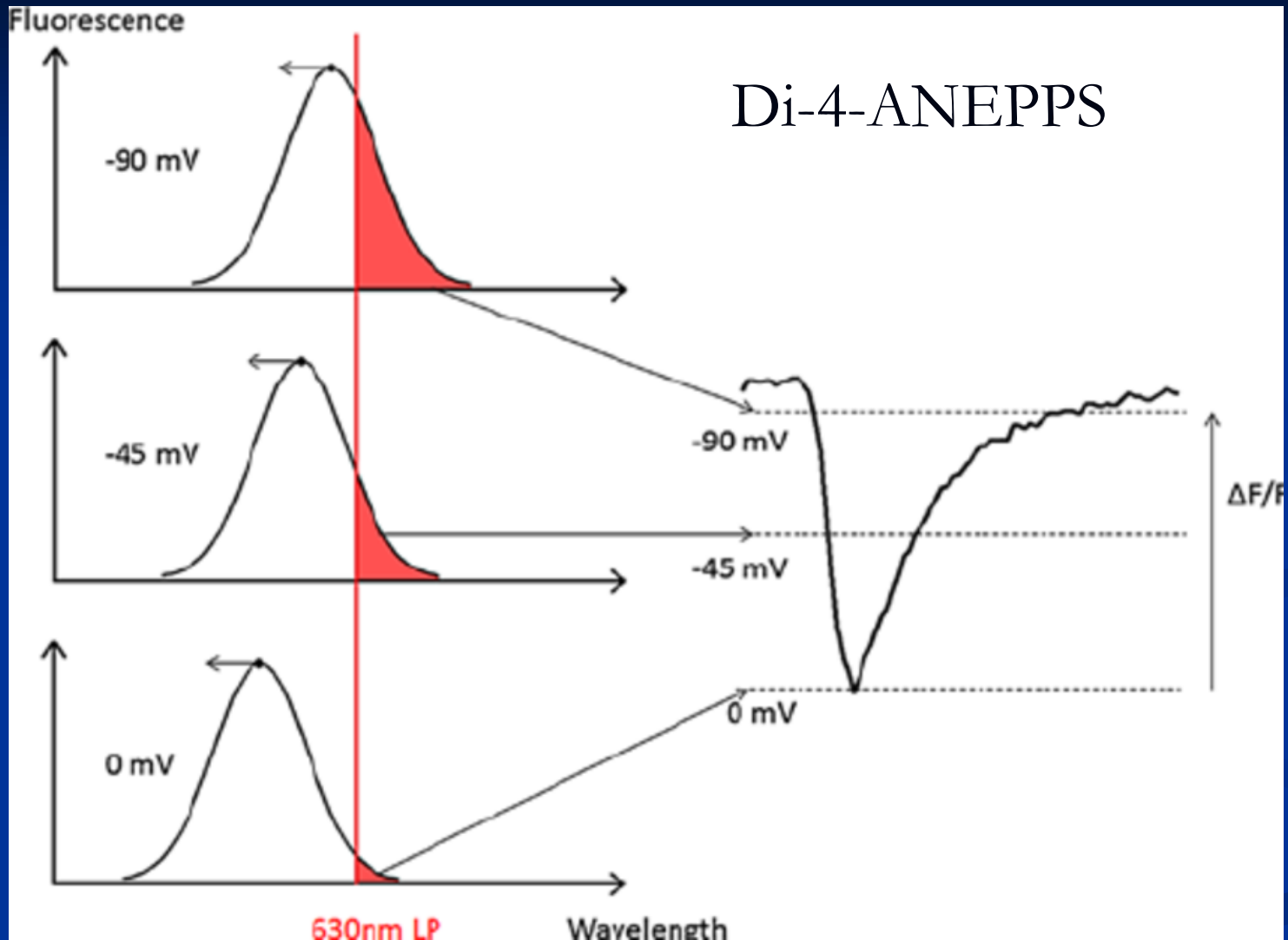


Egy „dual excitation ratiometric” Ca^{2+} indikátor (Fura Red) excitációs és emissziós spektrumai



A Fura Red festék abszorpciós és emissziós (szaggatott vonal) spektrumai minimális és maximális (szaturáló) Ca^{2+} koncentrációnál. Az emissziós spektrumok mérése 488 nm excitációs hullámhosszon történt.

A feszültségérzékeny festékek használatának alapelve



A szívizomsejtek depolarizációja során a Di-4-ANEPPS invertált akciós potenciált generál (a mérés 630-nm aluláteresztő filterrel történt).

Sejtfeltöltés

Acetoximetil-észter forma (-AM)

Transz-szarkolemmális diffúzió (zsíroldékony)

Az -AM csoport intracelluláris hasítása (a festék a sejtben marad)

1-5 μM (oldat) $\rightarrow$ 100 μM (intracelluláris)

Szubcelluláris kompartmentek vizsgálatára is alkalmas (alacsony affinitású festékvariánsok)

Vízoldékony forma (membrán impermeábilis)

Direct bejuttatás (patch pipetta, mikroinjekció, stb.)

Kontrollált mennyiség

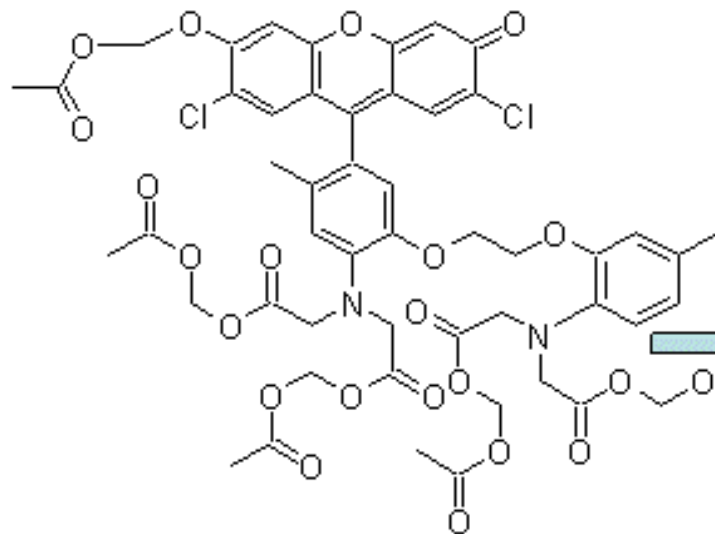
Kompartmentalizáció (hosszú távon)

Dextrán-konjugált forma

Nincsen kompartmentalizáció (napokig használható)

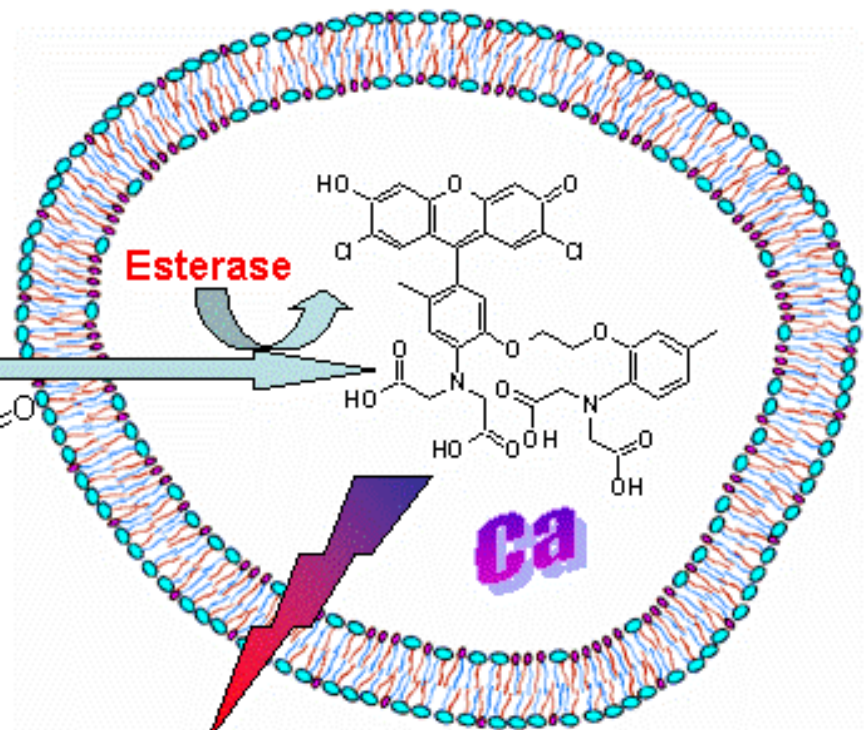
Szintén membrán impermeábilis

Acetoximetil-észter (-AM) formával történő sejtfeltöltés elve



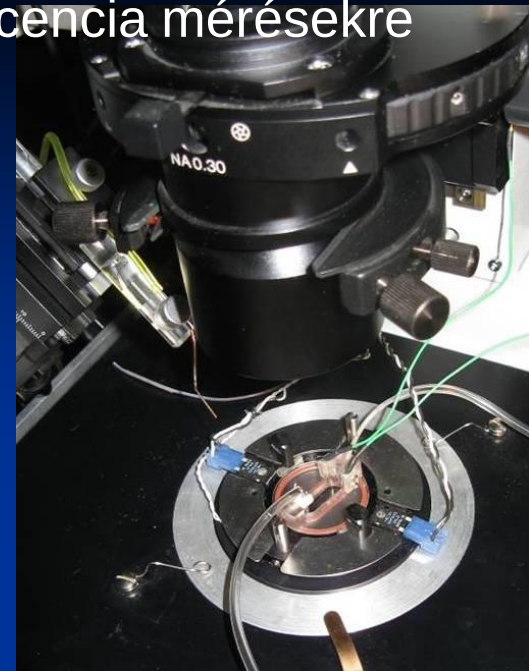
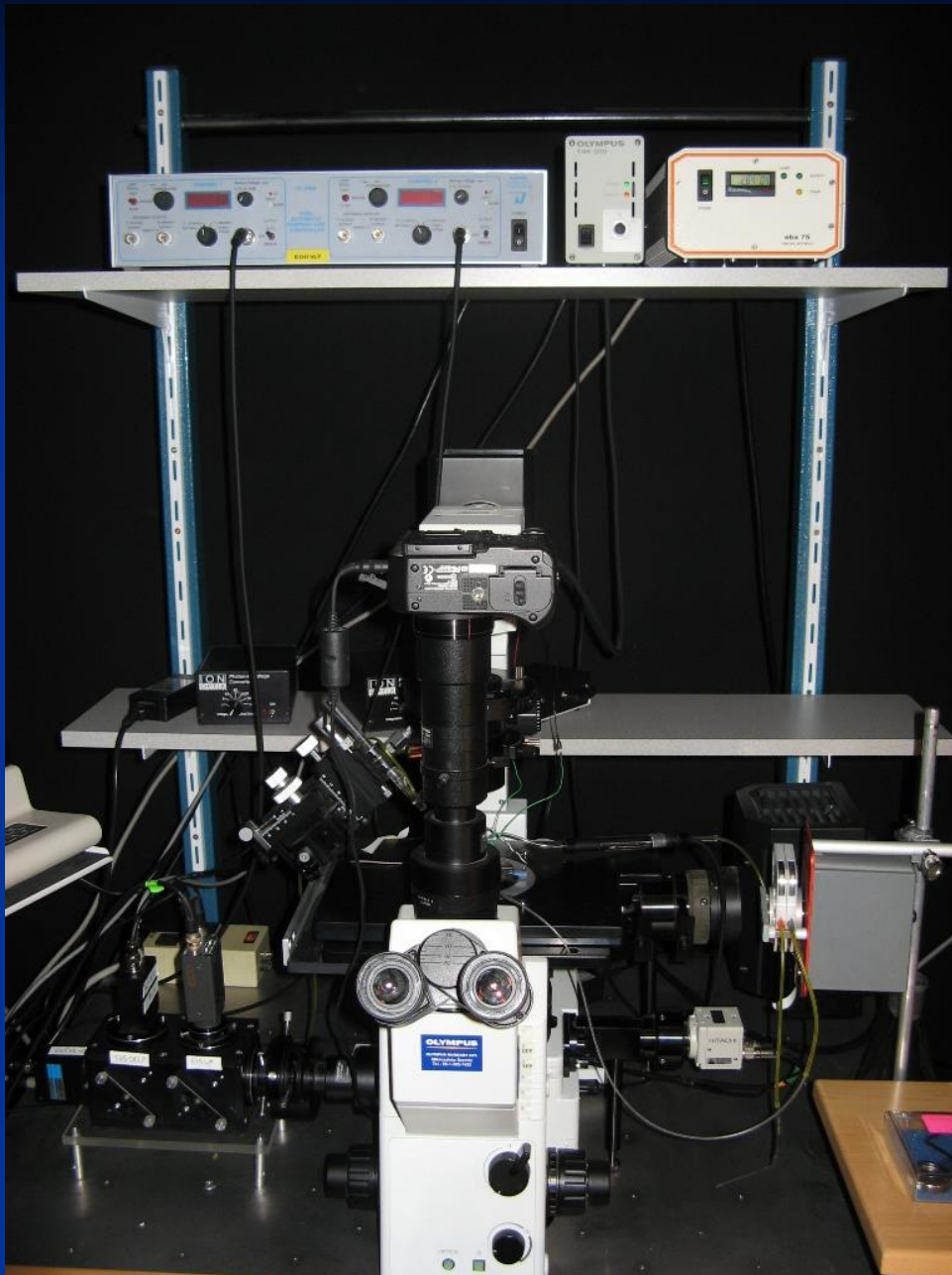
Fluo-3M, AM ester

Non-polar, non-fluorescent
and Ca-insensitive



Fluo-3M, Strongly fluorescent
upon binding calcium

Optikai rendszer sejtszintű fluoreszcencia mérésekre



Optikai módszerek 2.

(Ca^{2+}_i vizsgálatok Ca^{2+} -érzékeny festékekkel)

Az intracelluláris Ca^{2+} fiziológiai jelentősége a szívben

- a. Intracelluláris Ca^{2+} kompartmentek
- b. Ca^{2+} mozgások a szív ciklus során
 - i. Excitációs-kontrakciós csatolás
 - ii. Kontrakció és relaxáció
 - iii. „ Ca^{2+} tranziens”
- c. „ Ca^{2+} signalling”
- d. Ca^{2+} koncentráció becslése

Metodikai háttér

- a. A fluoreszcencia alapelvei
- b. „ Ca^{2+} -érzékeny” festékek
- c. Fluoreszcens mikroszkópia

Fontosabb intracelluláris Ca^{2+} kompartmentek szívműködő sejtekben

Citoplazma; miofilamentum régiók; szarkoplazmás retikulum; mitochondriumok; mag; “restricted space”; Golgi rendszer, stb.

Szív ciklus alatti Ca^{2+} mozgások – Ca^{2+} tranziens

Felszabadulás

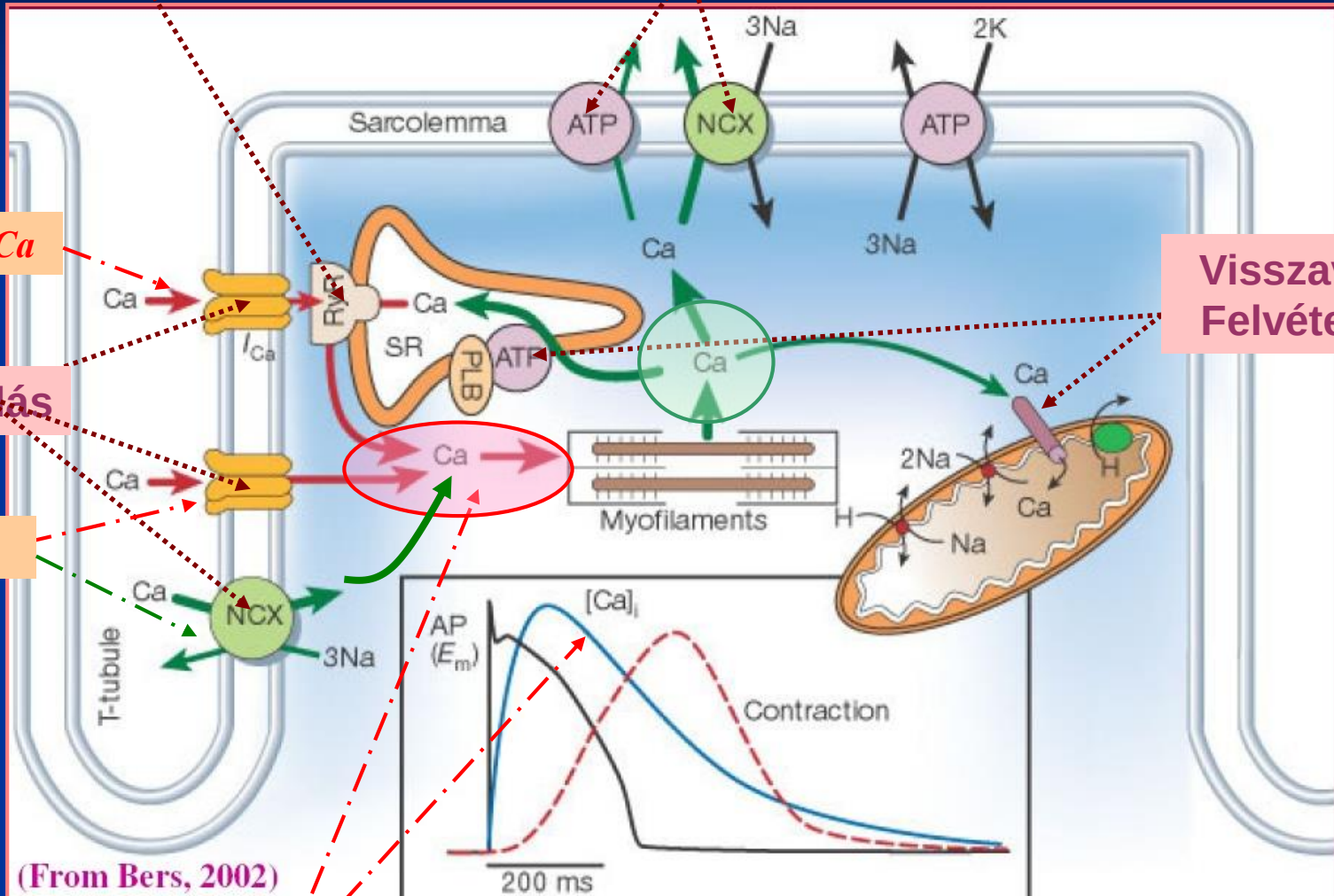
Eltávolítás

„trigger” Ca

Beáramlás

„load” Ca

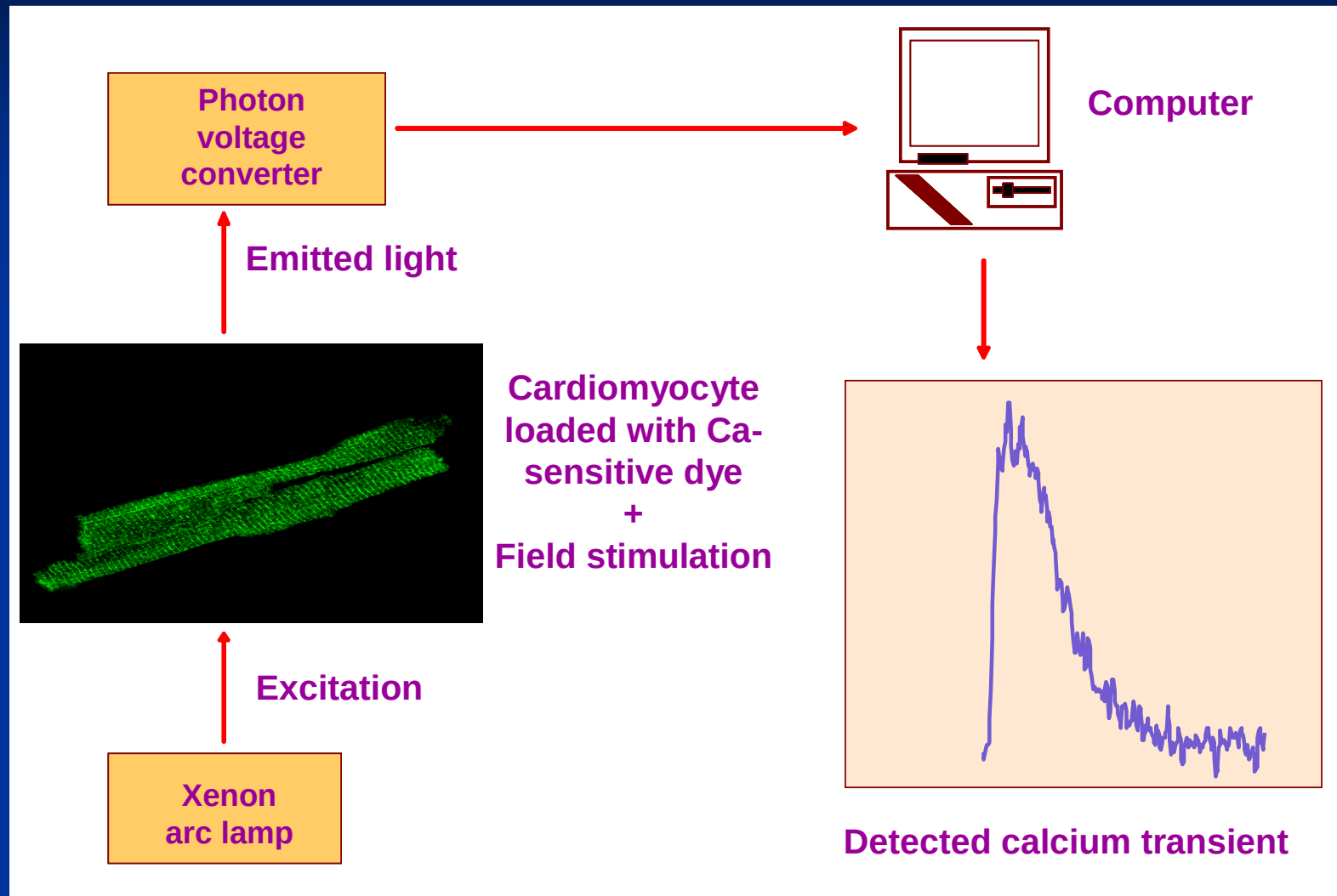
Visszavétel
Felvétel (?)



Ca^{2+} tranziens

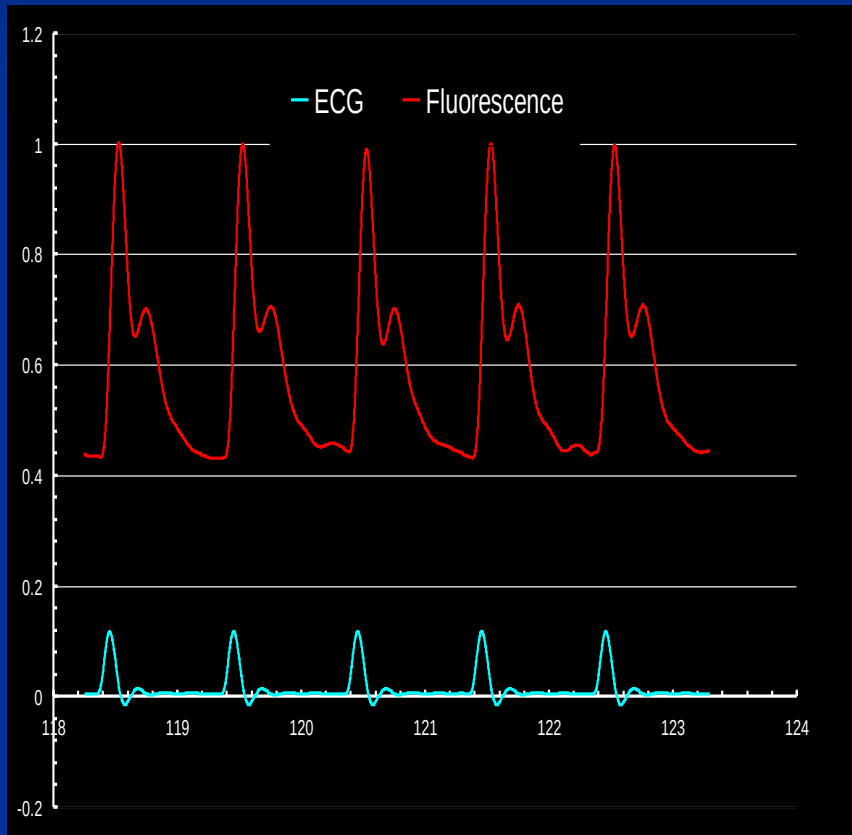
Steady state: Beáramlás = Kiáramlás
Felszabadulás = Visszavétel

Sejtszintű Ca^{2+}_i mérés alapelvei

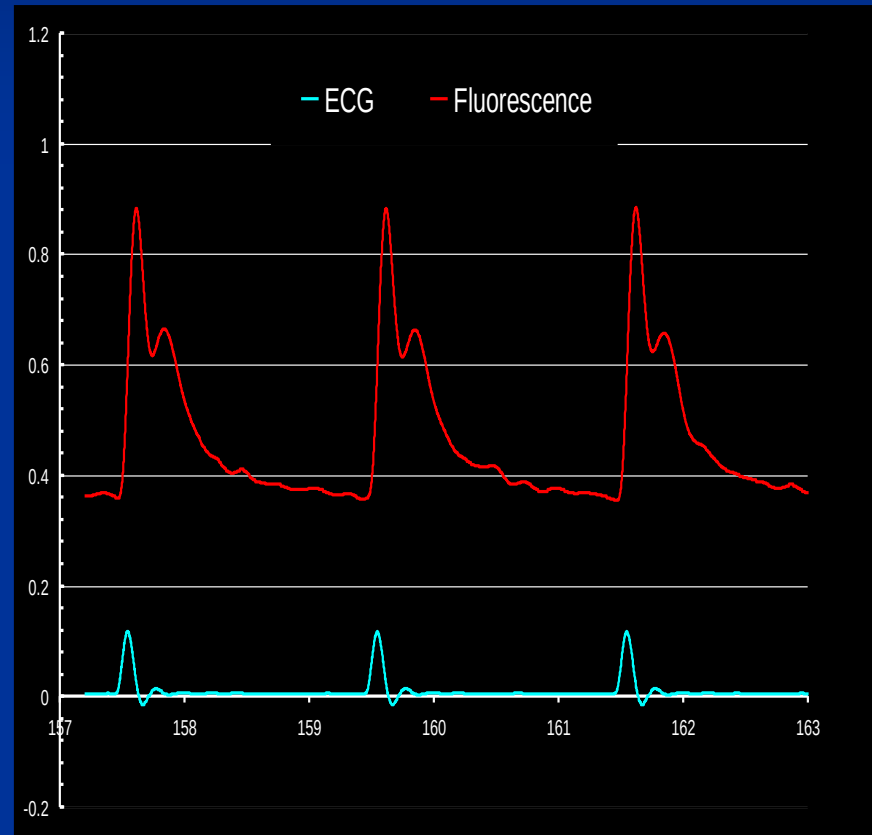


Példa sejten történő Ca^{2+} mérésre – frekvencia válasz izolált *humán* kamrai szívizomsejtben

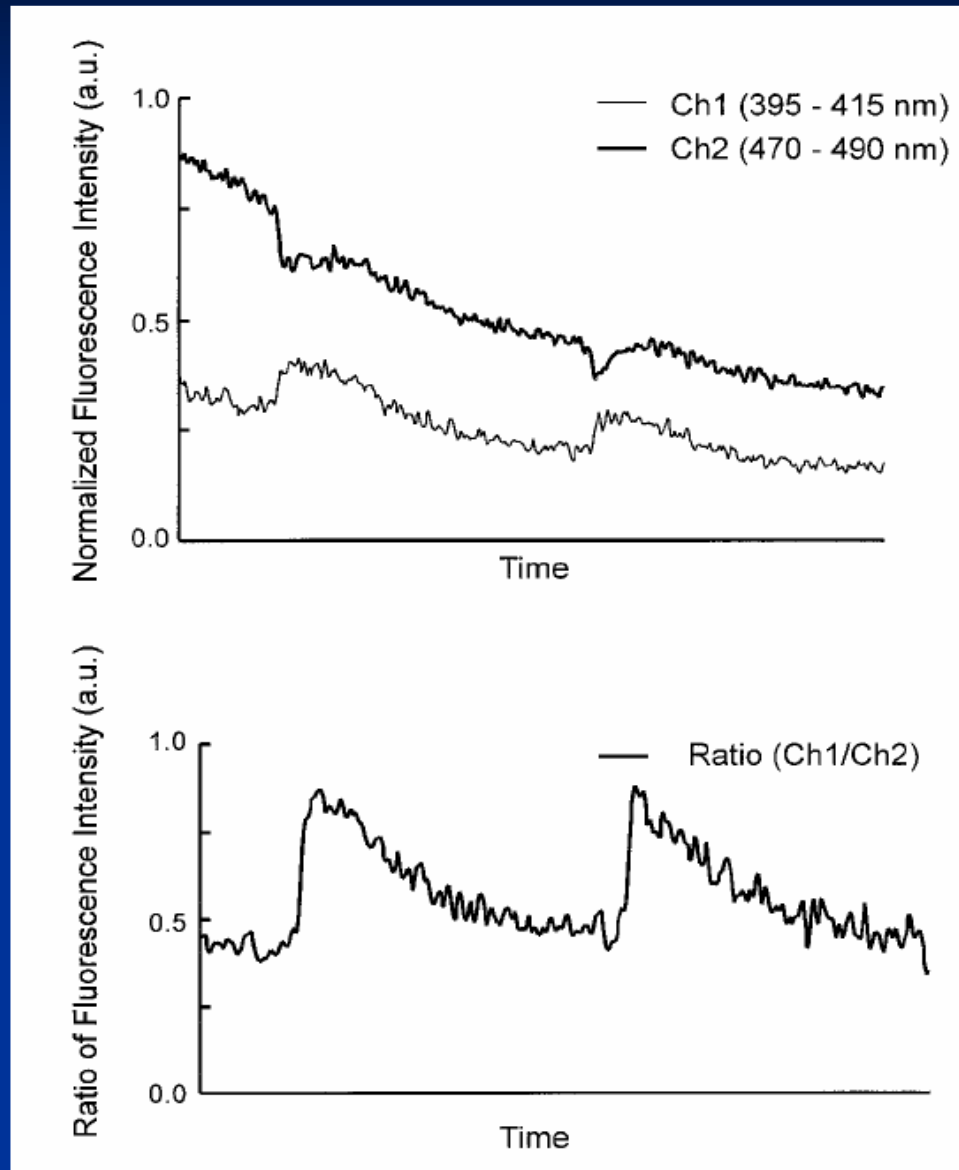
1 HZ



$\frac{1}{2}$ Hz



A Ca^{2+} tranziens monitorozása Indo-1 „dual emission ratiometric” festékkel



A Ca^{2+} -függő fluoreszcens jelek kalibrálása

$F_{\min}$: Ca^{2+} -mentes körülmények

$F_{\max}$: Ca^{2+} -telített körülmények

F : aktuális fluoreszcens jel

K_d : a festék disszociációs
konstansa

Nonratiometric

$$[\text{Ca}^{2+}] = \frac{(F - F_{\min})}{(F_{\max} - F)} K_d$$

$R_{\min}$ & $R_{\max}$: mint fenn

R : a két aktuális fluoreszcens
jel hányadosa

K_d : a festék disszociációs
konstansa

β : $F_{\text{free}}/F_{\text{bound}}$ (λ_{free} -nél)

Ratiometric

$$[\text{Ca}^{2+}] = \frac{(R - R_{\min})}{(R_{\max} - R)} K_d \beta$$

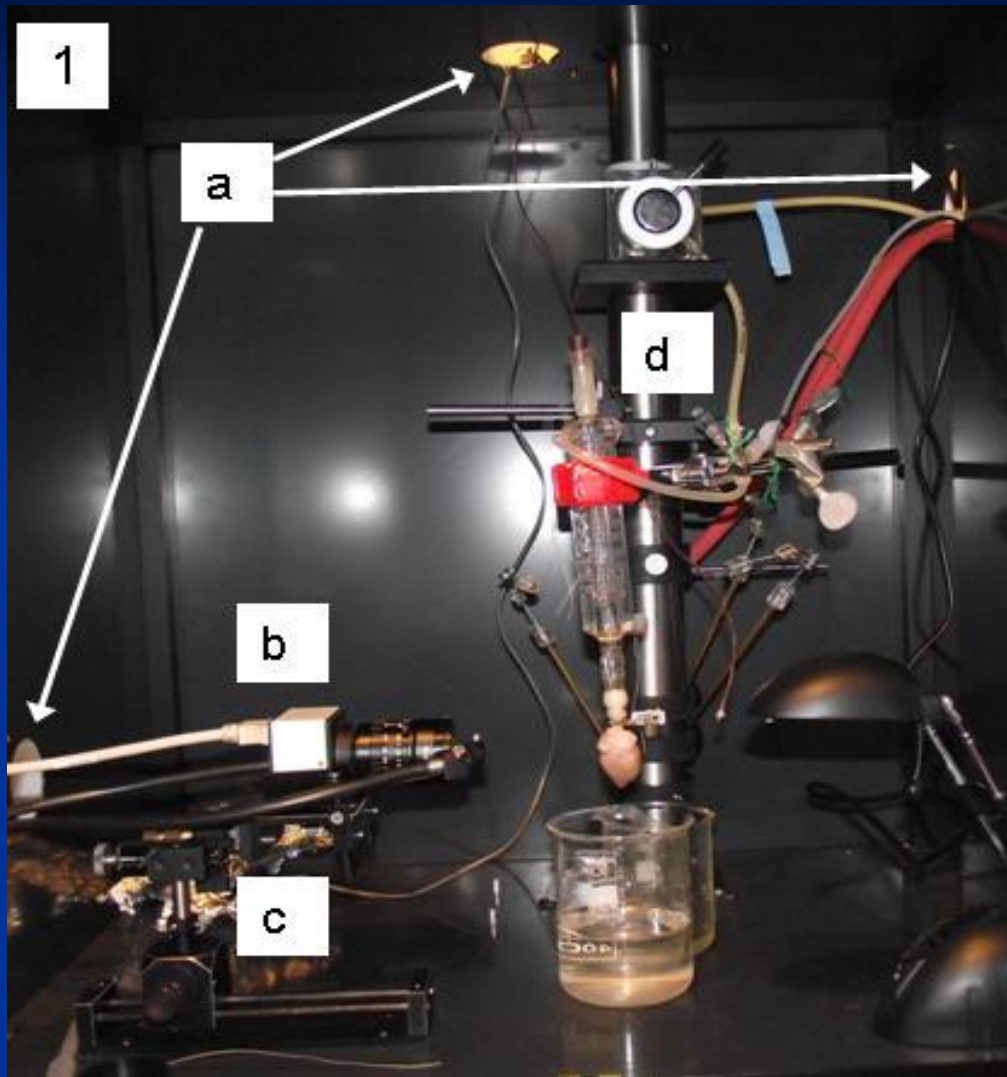
A minimális és maximális Ca^{2+} -függő fluoreszcens jelek becslése „in situ” kalibráció céljára

	Chemicals used ^a	Typical concentrations
$R_{\min}$	EGTA with ionomycin	1–5 mM EGTA 2–10 μM ionomycin
	BAPTA with ionomycin	0.5–1 mM BAPTA 2–10 μM ionomycin
	BAPTA-AM	5–50 μM
$R_{\max}$	High Ca^{2+} with ionomycin	5–20 mM Ca^{2+} 2–10 μM ionomycin
	High Ca^{2+} with digitonin	5–20 mM Ca^{2+} 10–25 μM digitonin
	High Ca^{2+} with digitonin, ATP, and Mg^{2+}	5–20 mM Ca^{2+} 10–25 μM digitonin 1 mM ATP 1 mM Mg^{2+}

Optikai módszerek 3.

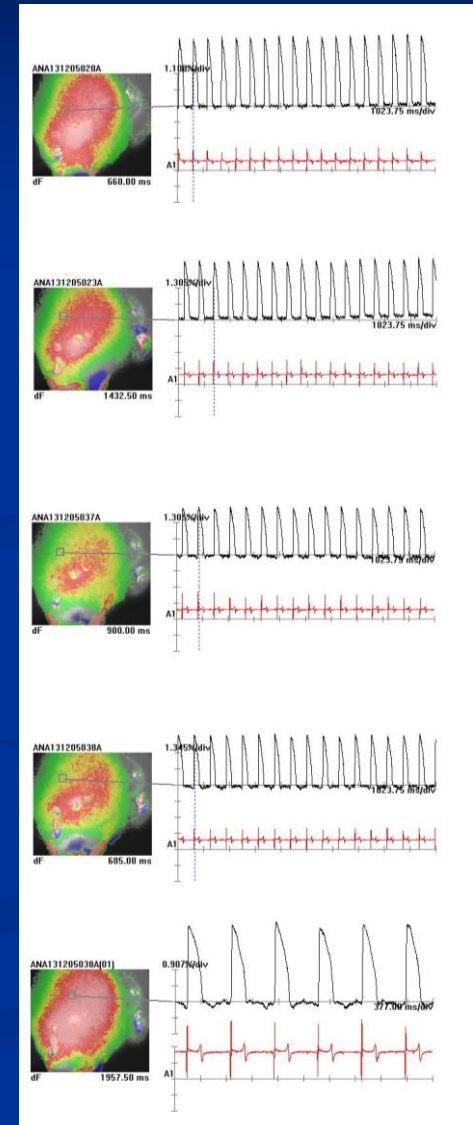
(AP mérések feszültség-érzékeny festékekkel)

Optikai AP térképezés izolált szíven (AP-mapping)

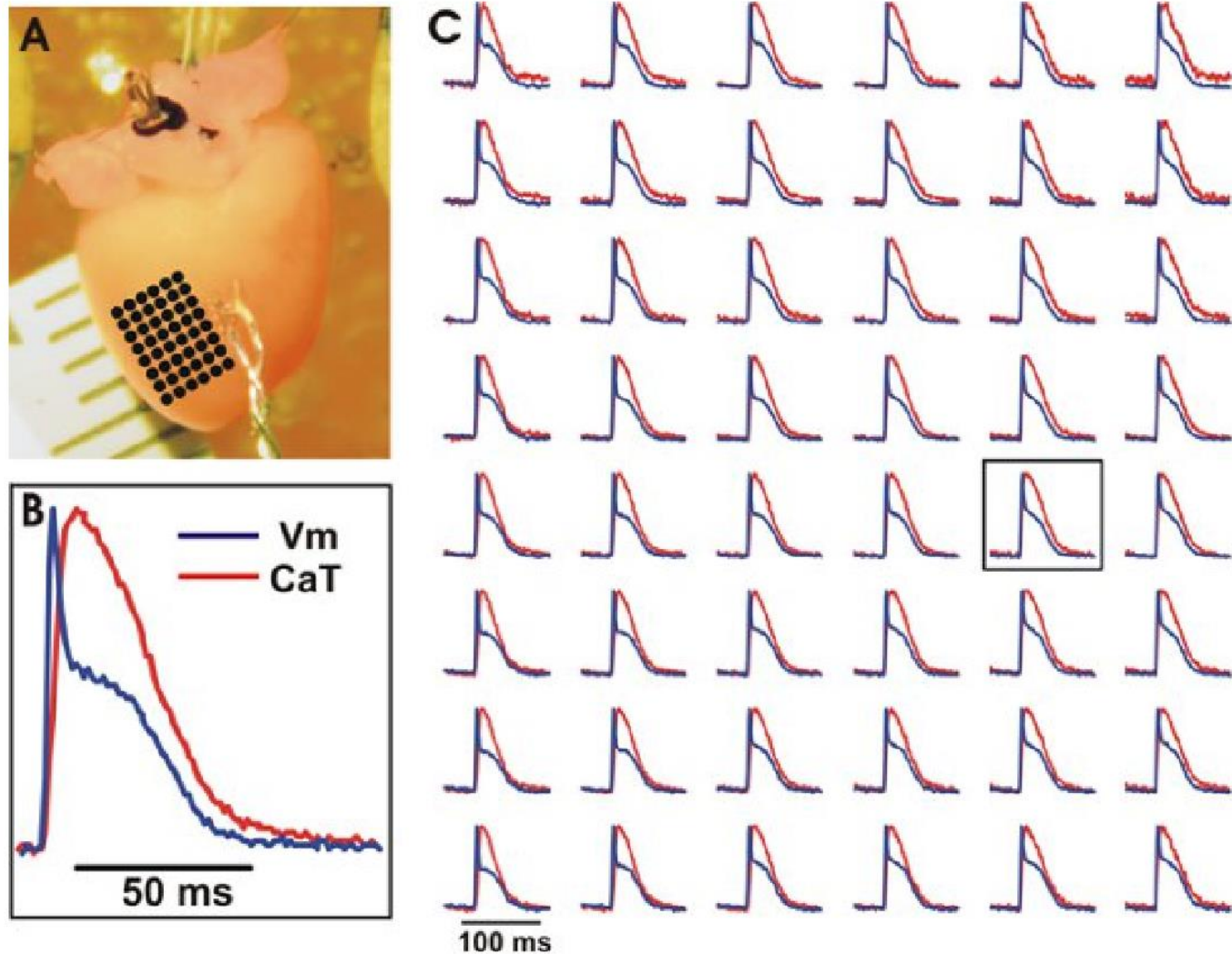


a) Fényzárt mérődoboz; b) CCD kamera nagy (1ms) időbeli felbontással; c) gerjesztő száloptika; d) módosított Langendorff perfúziós rendszer

Dofetilid (100 nM) hatása tengerimalac szíven

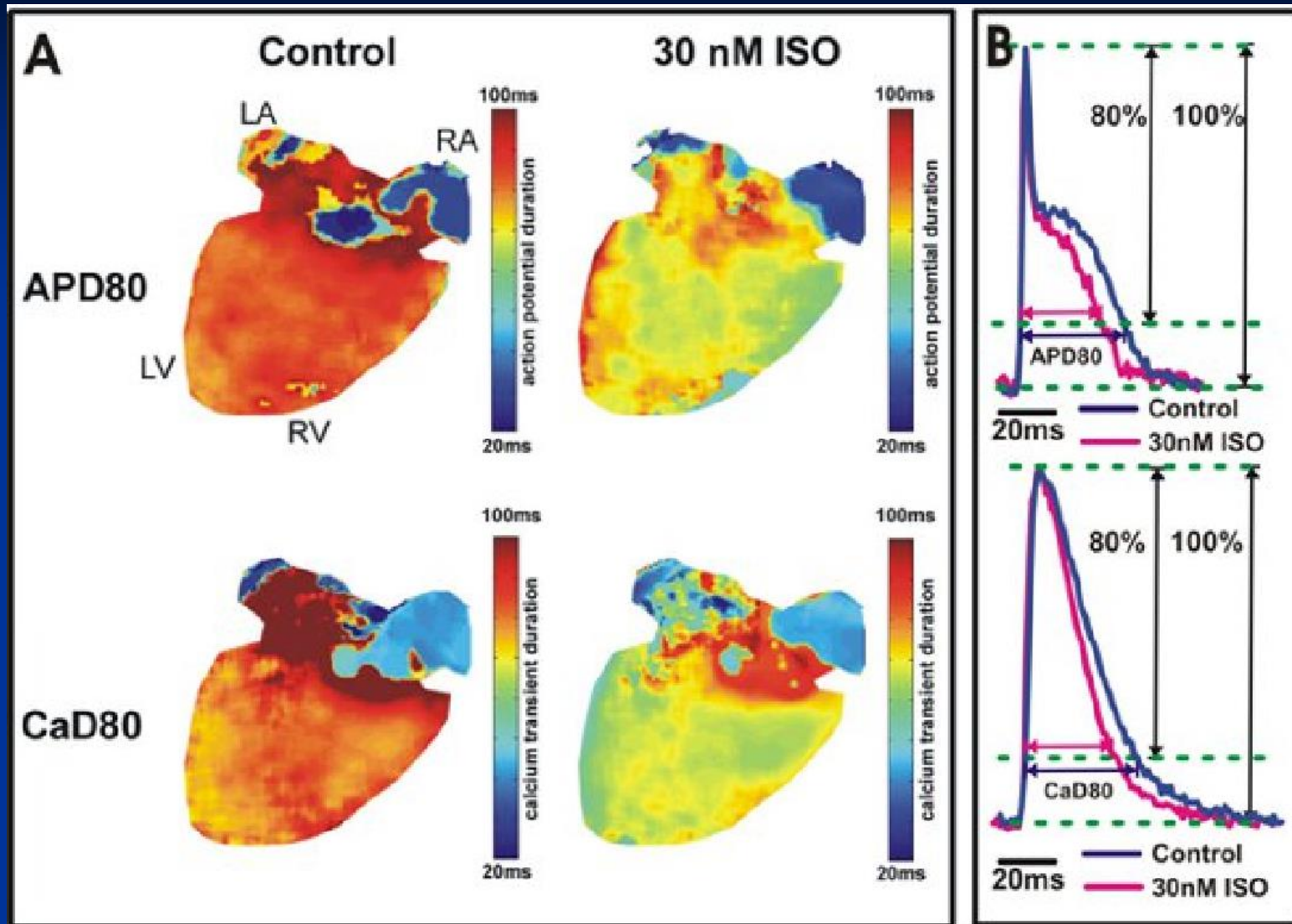


CaT + AP „mapping” Ca^{2+} -, illetve potenciál-szenzitív festékekkel



Reprezentatív optikai V_m és CaT regisztrátumok egér szívkamrákról

Példa optikai CaT + AP mapping adatok analízisére



Akciós potenciál, illetve Ca^{2+} tranziens térképek időtartam analízise

Szupplementum

Szubcelluláris Ca^{2+} mérések ***

Konfokális mikroszkópia alapelvei
(„laser scanning” vagy „Nipkow disk”)

- i. „Image scan”
- ii. „Line scan”

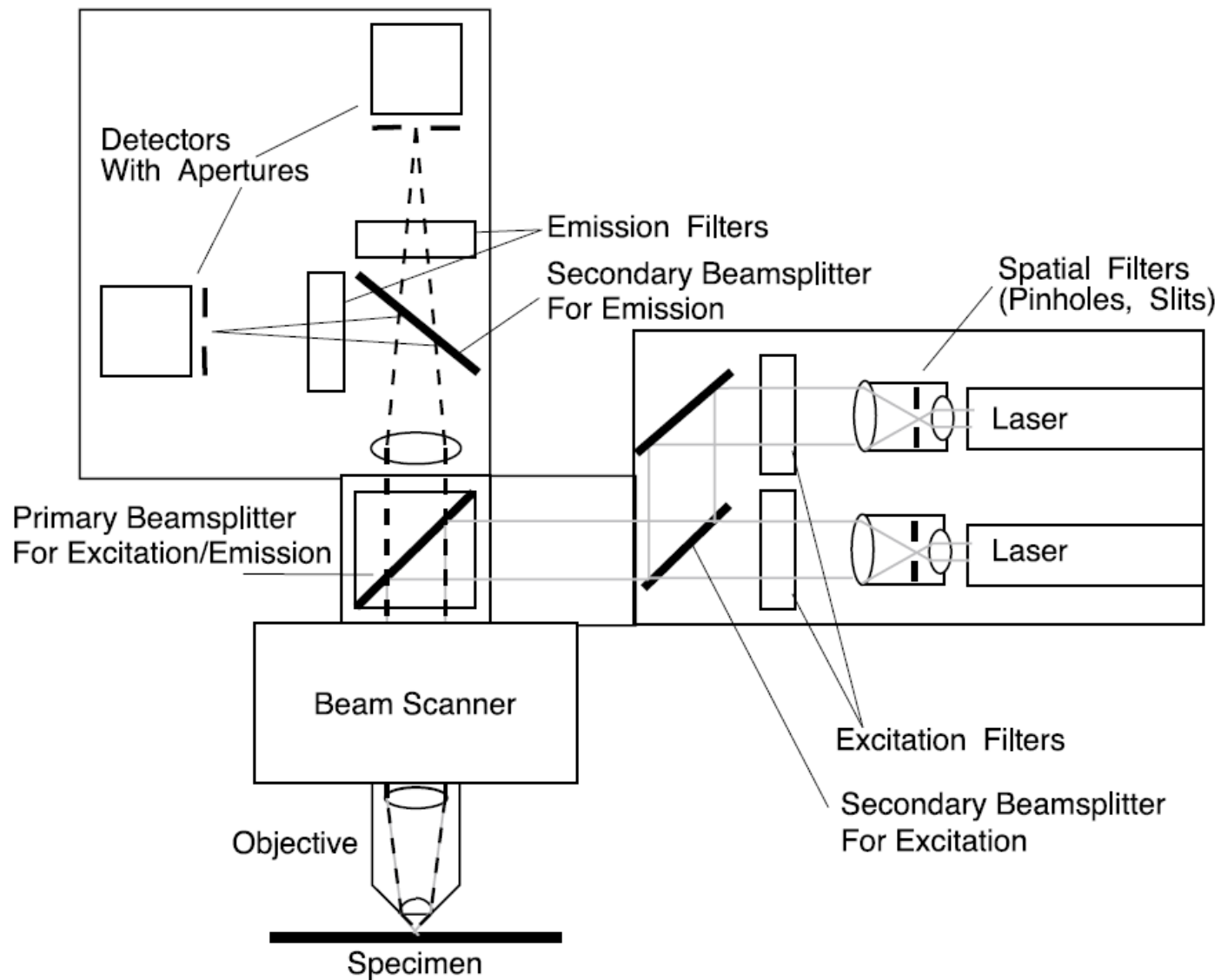
„Near membrane” mérés

Az SR Ca^{2+} tartalmának meghatározása

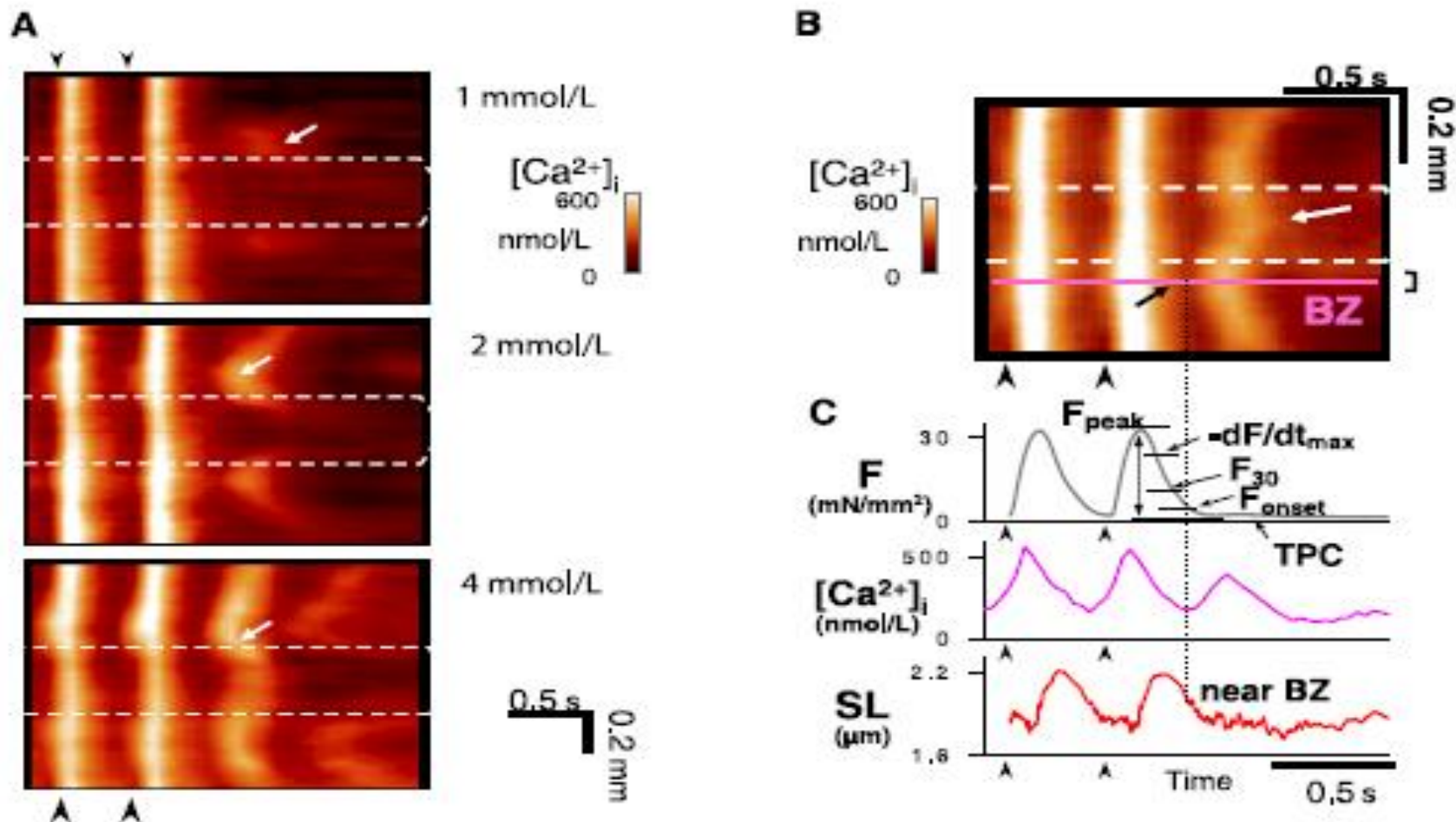
- i. Alacsony érzékenységű festékekkel
- ii. Koffein pulzussal

Mitochondriális Ca^{2+} tartalom meghatározása

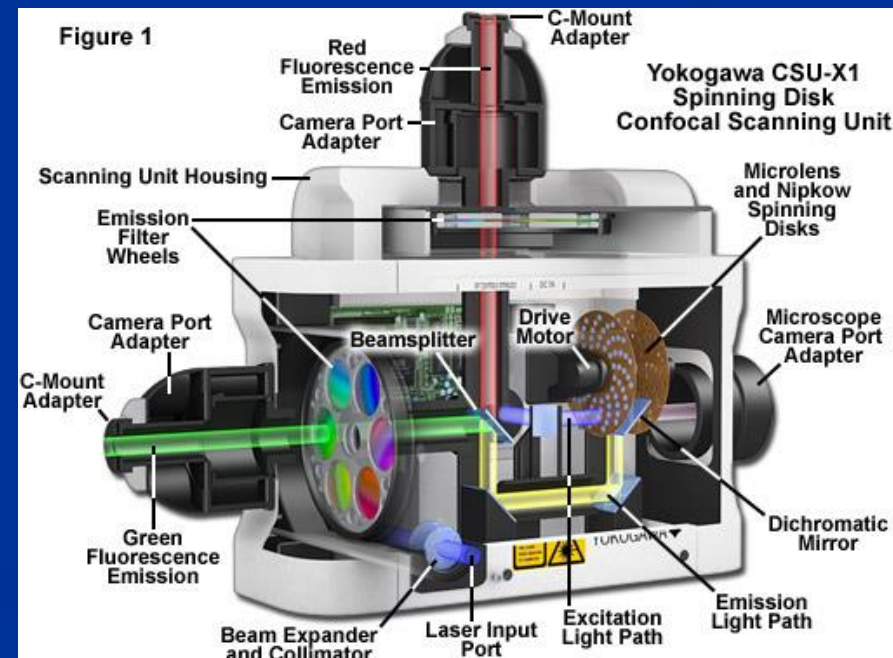
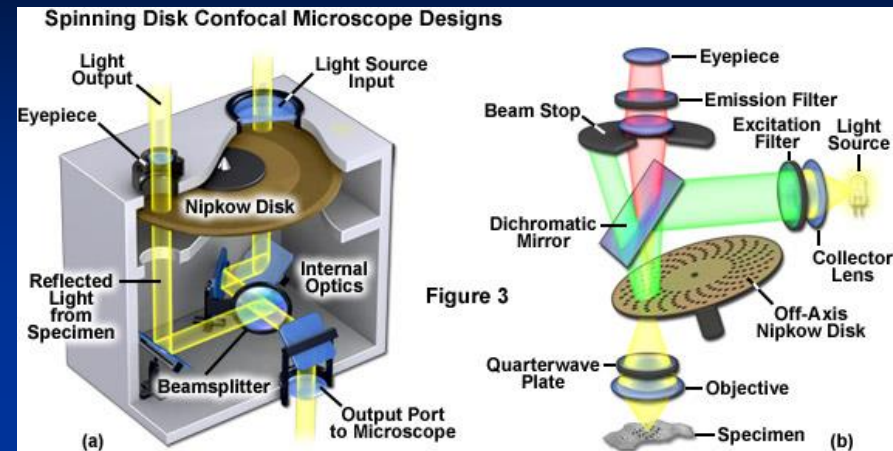
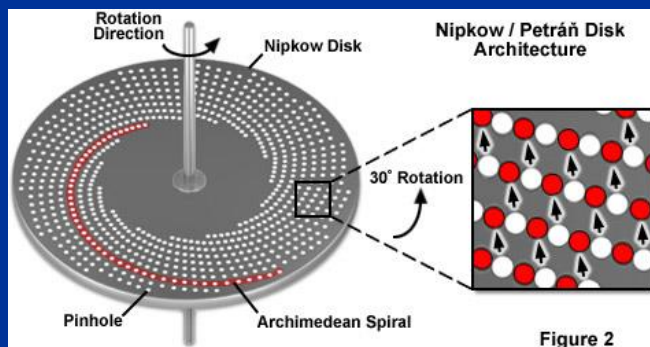
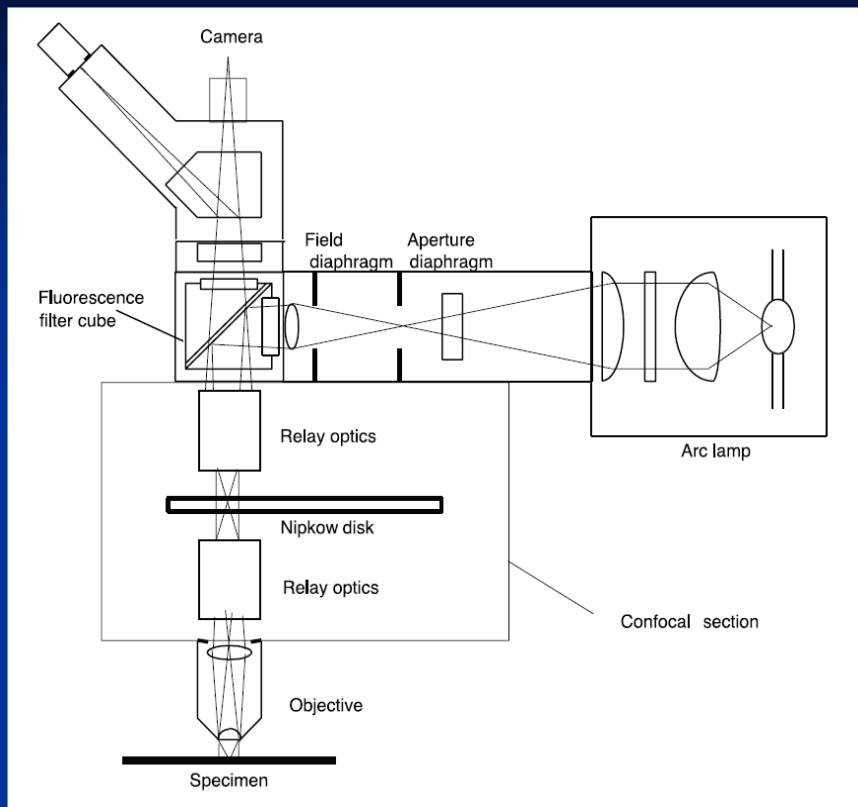
„Laser scanning” konfokális mikroszkóp sémája



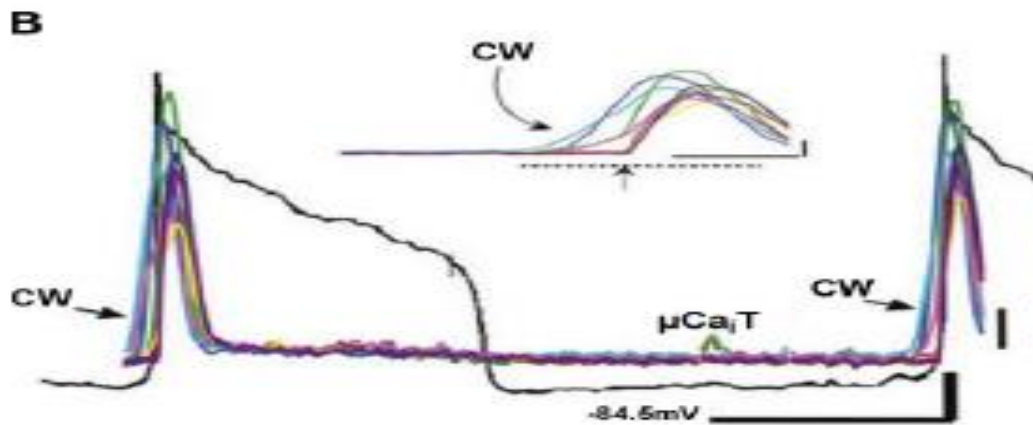
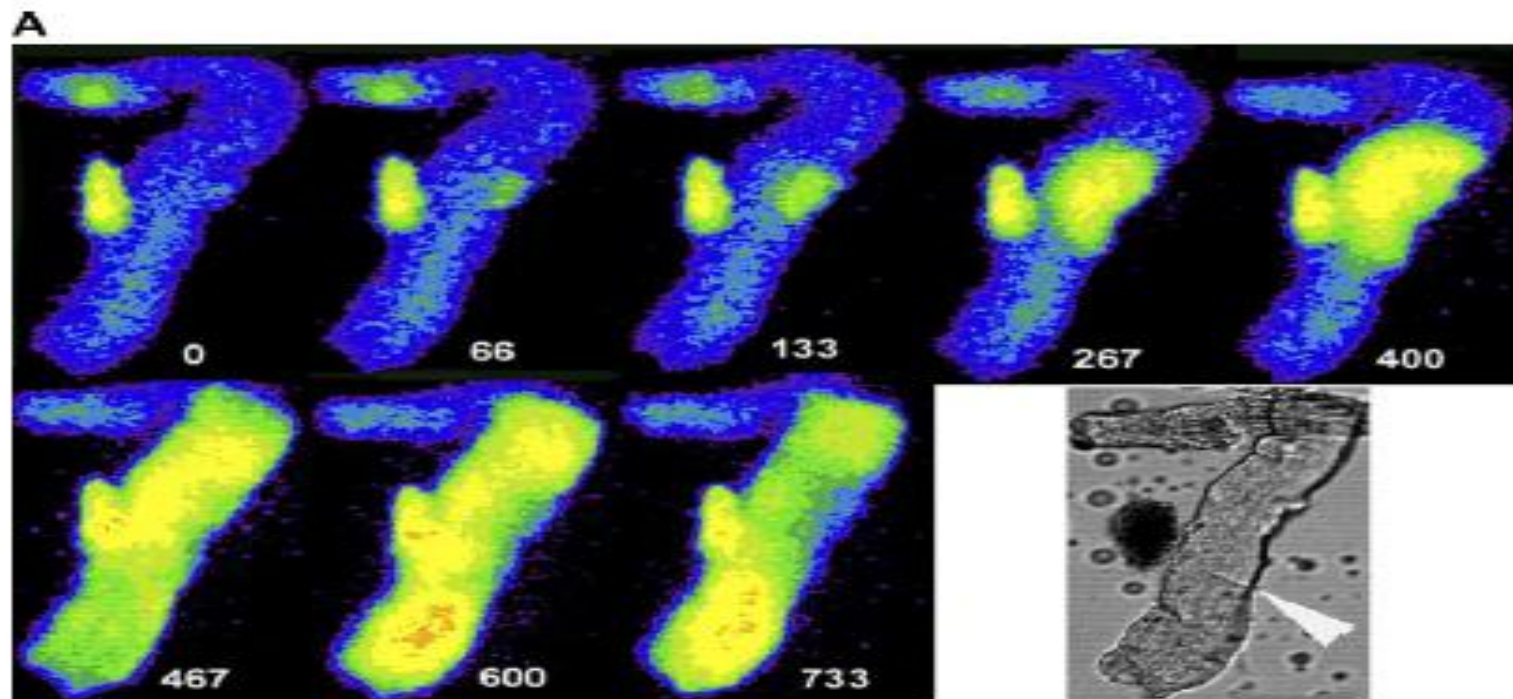
„Line scan” konfokális mikroszkópia – Ca^{2+} hullámok kialakulása multicelluláris preparátumban egyenlőtlen EC-csatolás (BDM kezelés) következtében



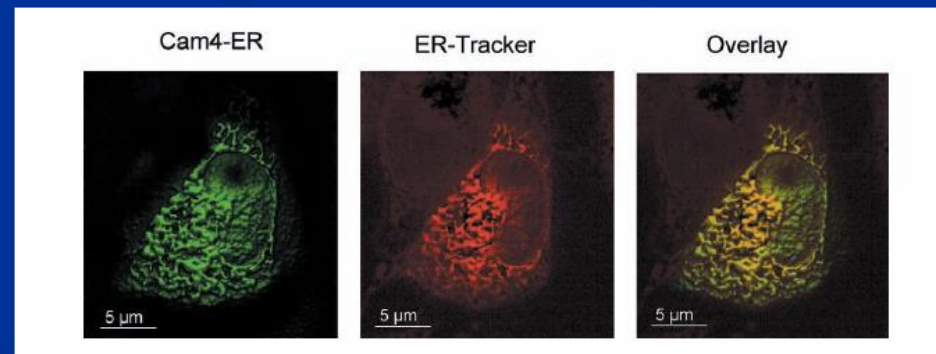
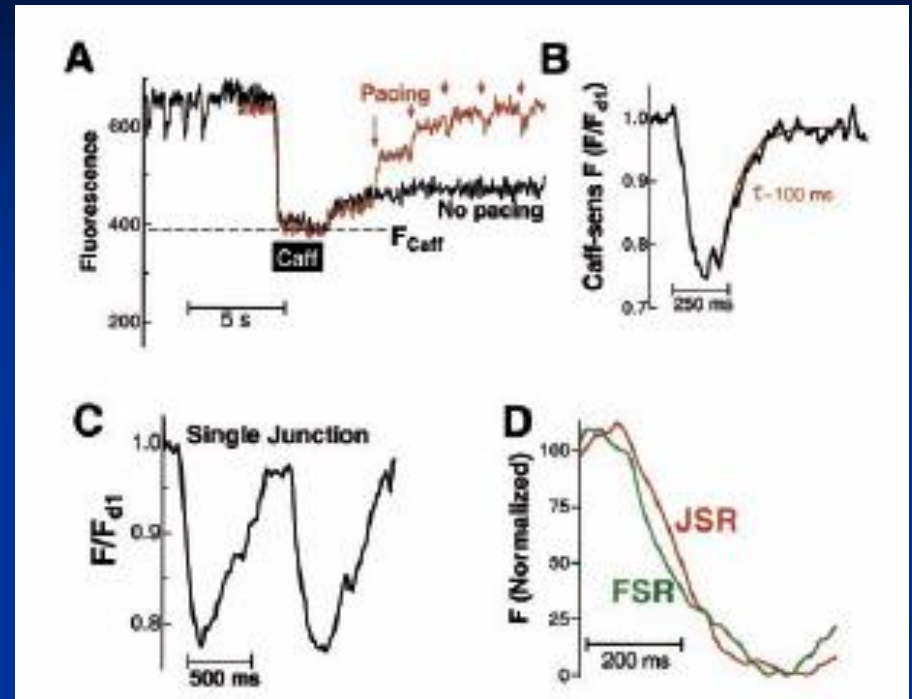
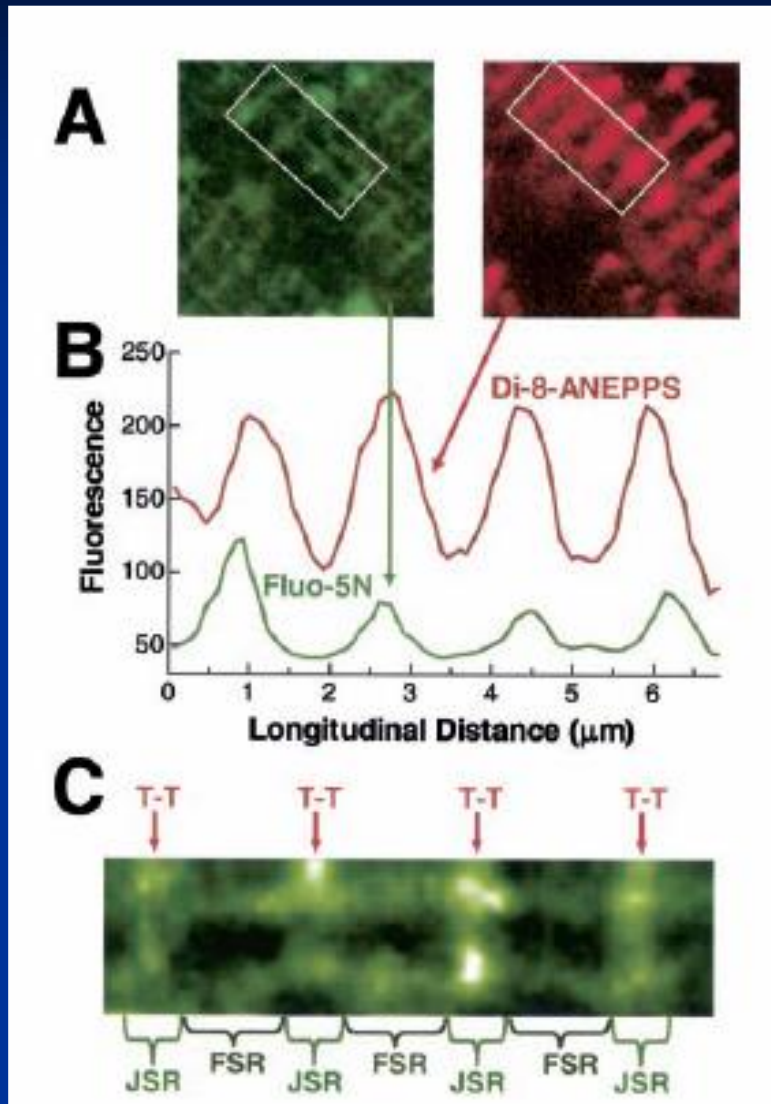
„Spinning disk” konfokális mikroszkóp működési elve



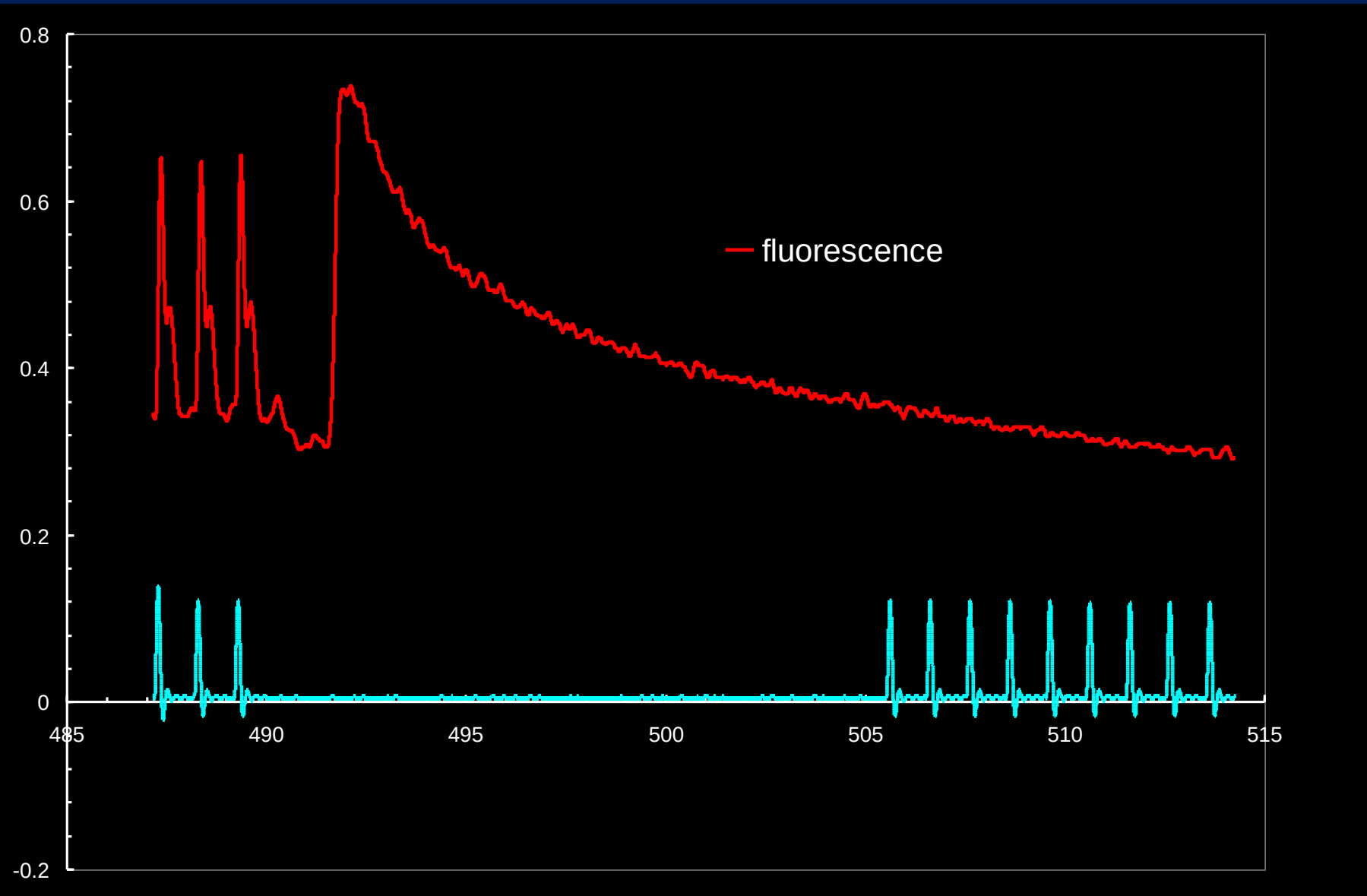
„Imaging’ konfokális mikroszkópia – Ca^{2+} hullám kialakulása



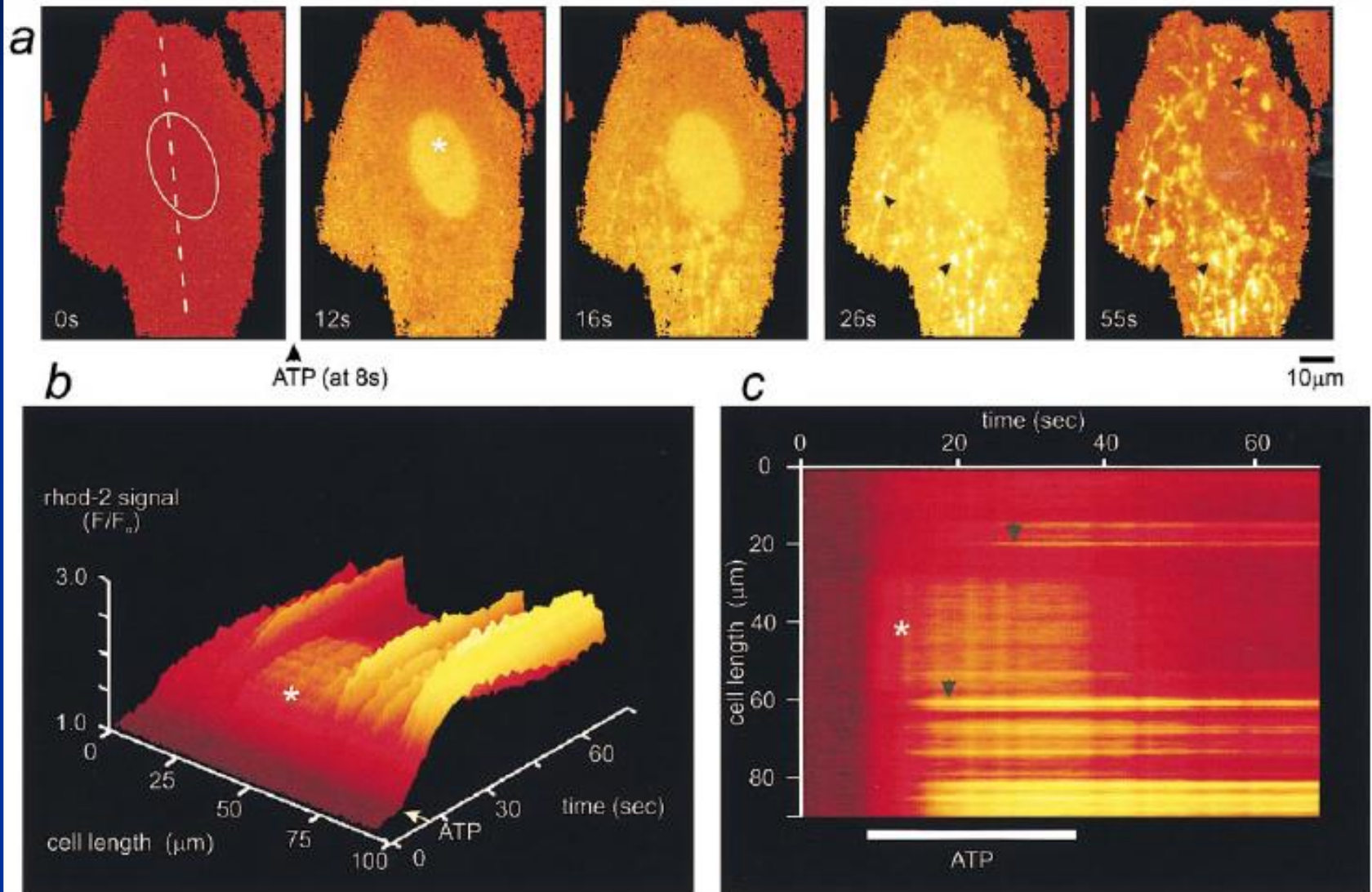
SR/ER Ca^{2+} tartalom monitorozása alacsony affinitású festékekkel (Fluo-5N)



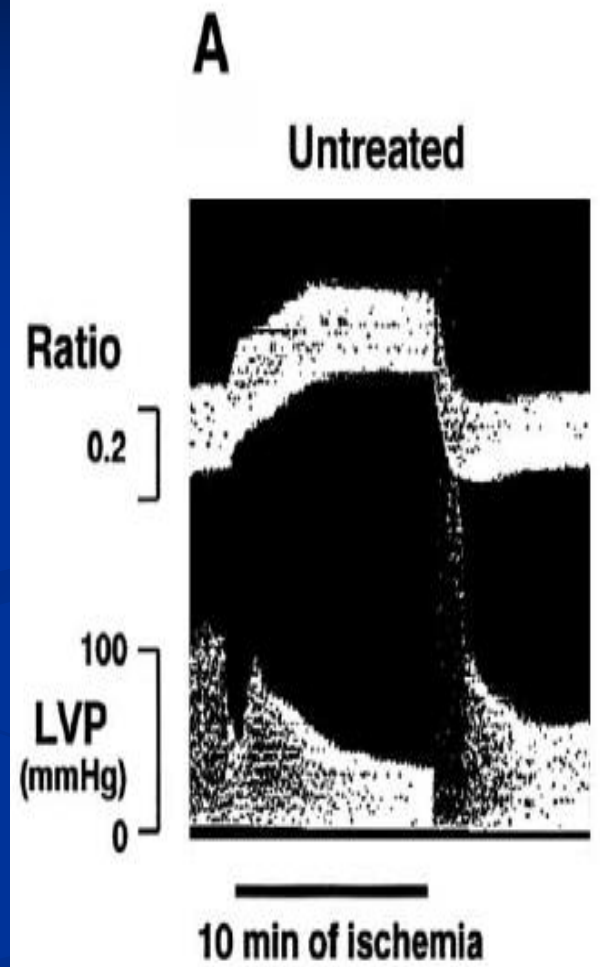
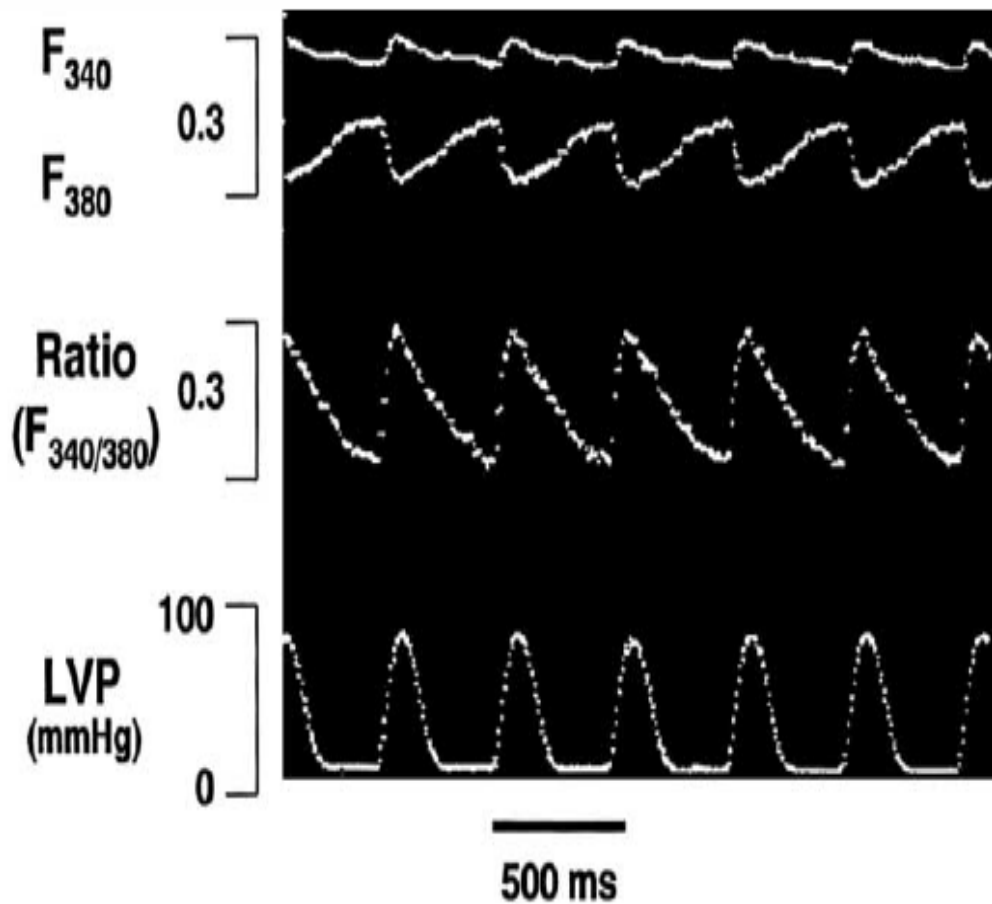
Koffein tranziens hatása az intracelluláris Ca^{2+} szintre izolált humán kamrai szívizomsejtben



Mitochondriális Ca^{2+} meghatározás rhod-2 festékekkel



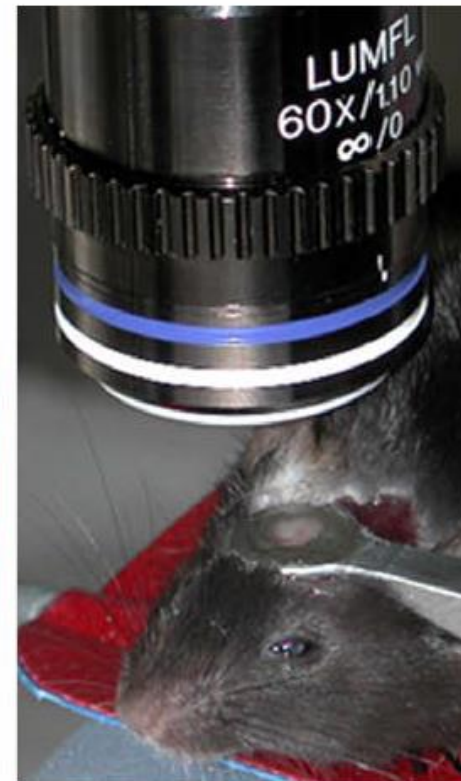
Ca²⁺ meghatározás Fura 2 festékkel izolált intakt szívben



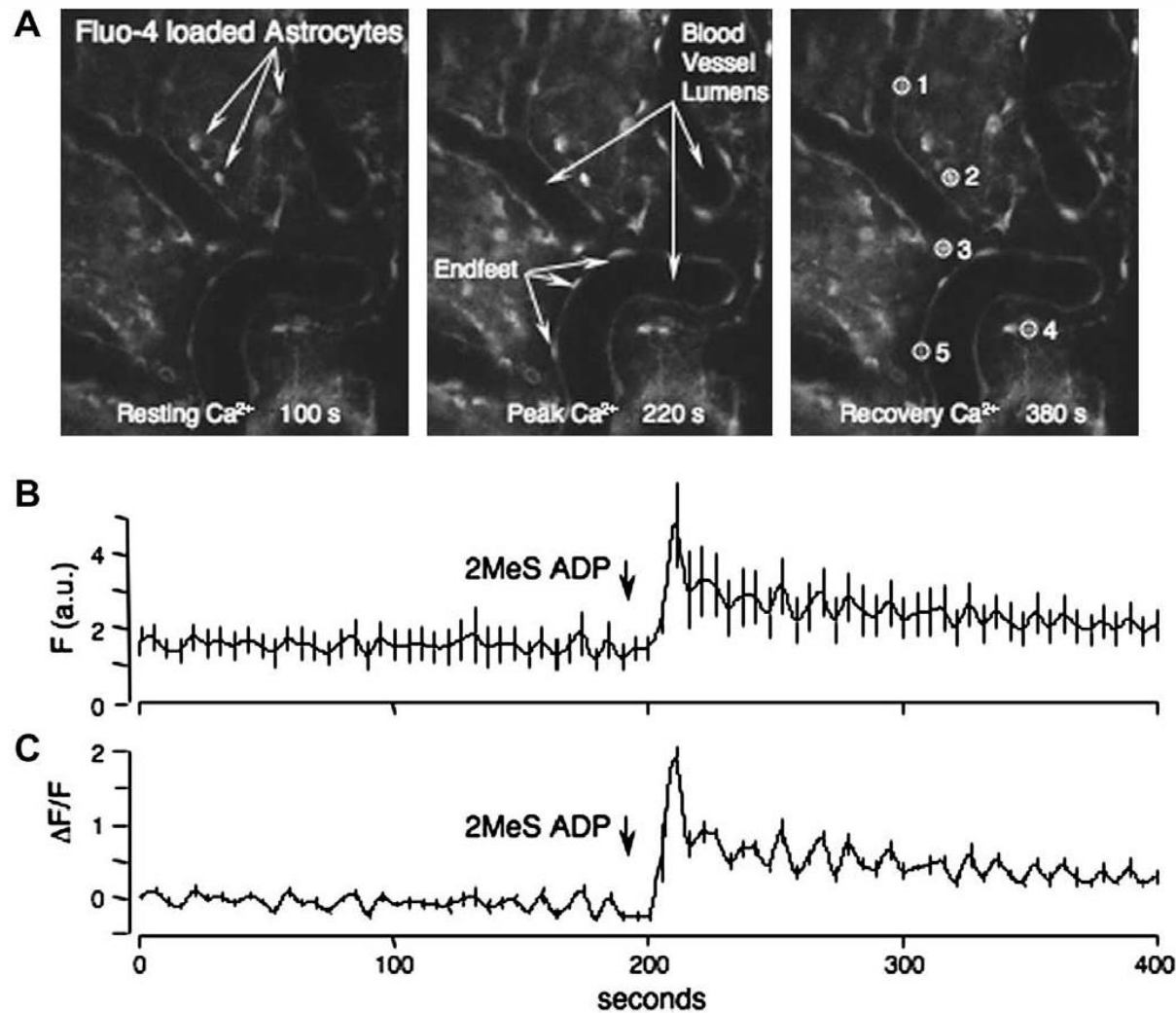
Különleges technikák***

- a. „In vivo” mérések
- b. „Dual photon” gerjesztés
- c. Genetikusan kódolt Ca^{2+} indikátorok
- d. „FRET” mérés
- e. „Lifetime” (élettartam) meghatározások

Konfokális mikroszkóp rendszer in vivo Ca^{2+} imaging céljára



Agy felszínén „in vivo” végzett Ca^{2+} imaging

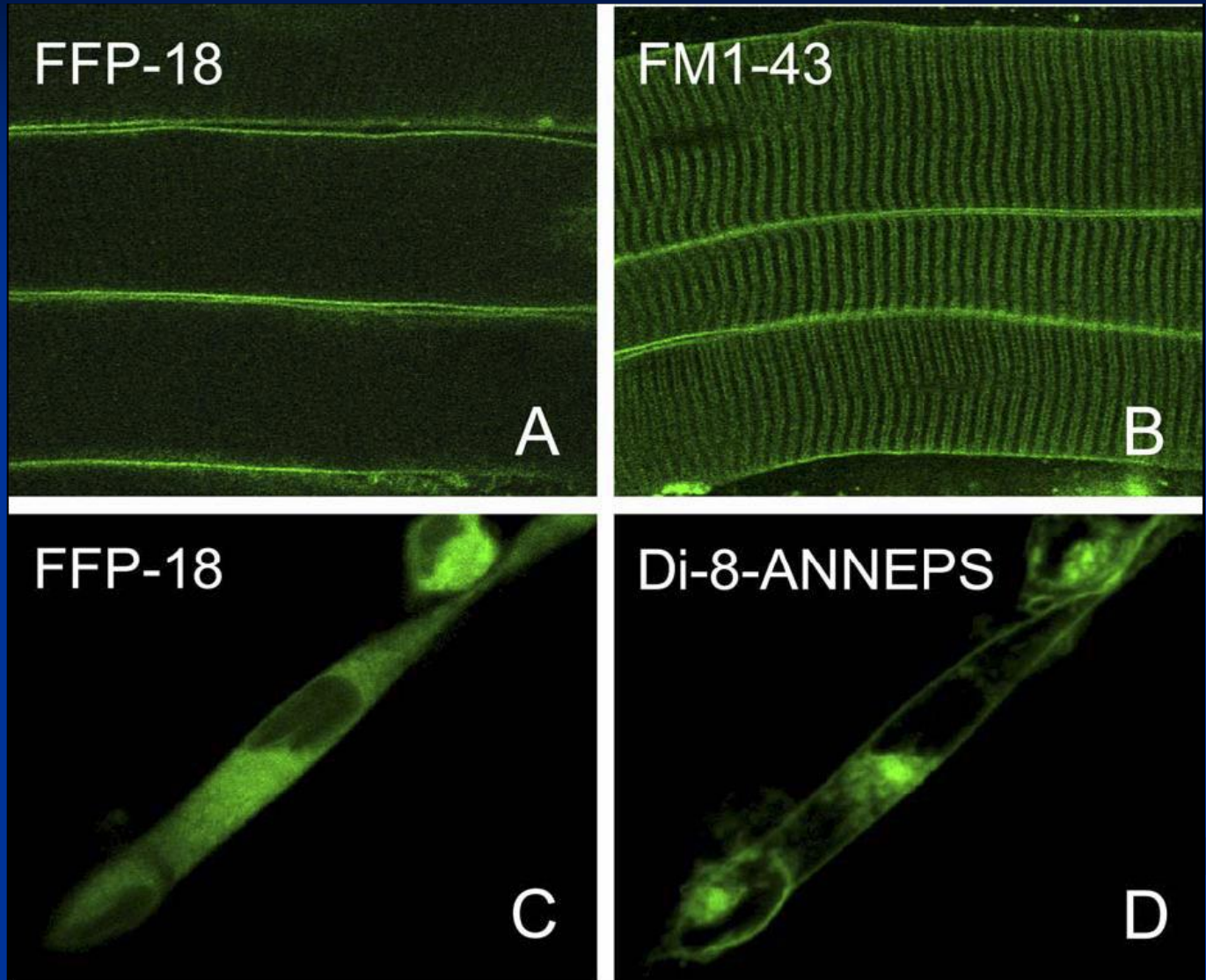


Membrán-közelí festékekkel feltöltött miofibrillumok és miotubulusok

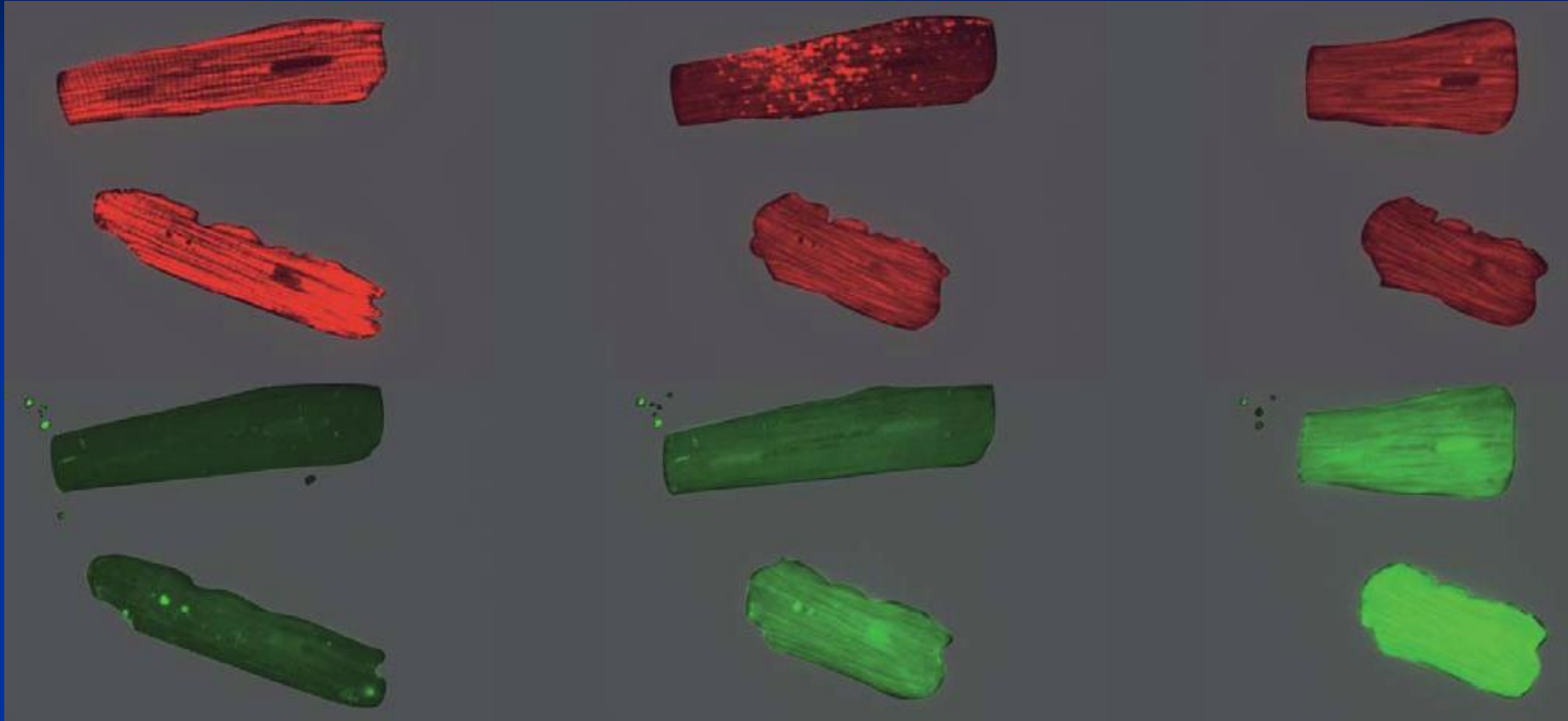
FFP-18:
szarkolemma

FM1-43:
szarkolemma
+ T-tubulusok

Di-8-ANNEPS:
szarkolemma

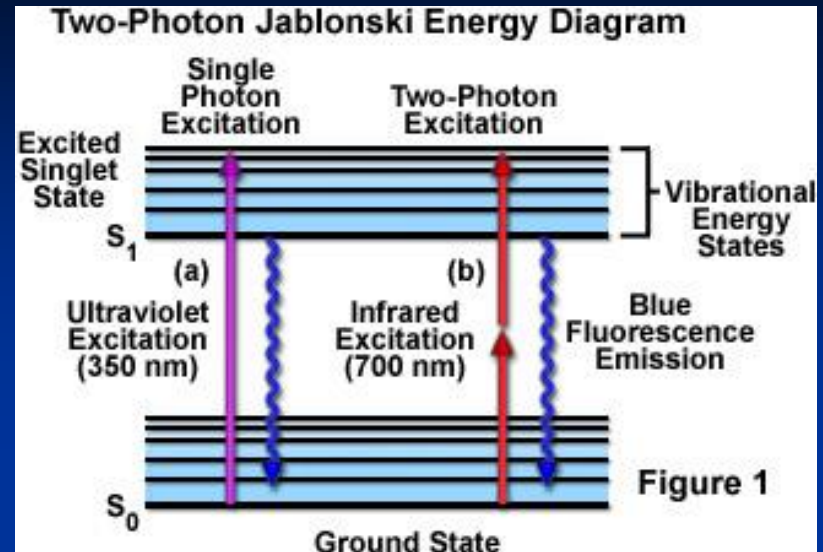
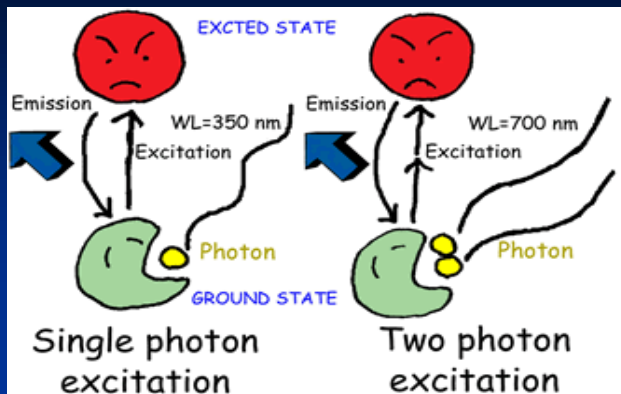


Mitochondriális membránpotenciál és intracelluláris Ca^{2+} szint egyidejű mérése szívmusclejeken: Oxidatív stressz hatására kialakuló hiperkontrakúra

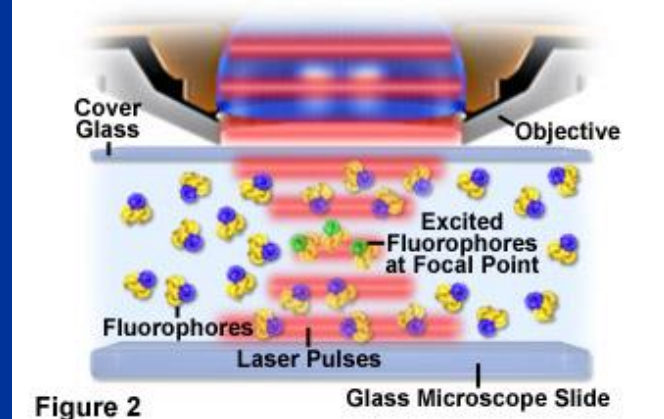


Piros: TMRE (potenciál-érzékeny festék) fluoreszcencia – mitochondriális depolarizáció
Zöld: Fluo-4 (Ca^{2+} -érzékeny festék) fluoreszcencia – intracelluláris Ca^{2+} túltelődés

A „dual photon” gerjesztéses fluoreszcencia elve



Fluorophore Excitation in Multiphoton Microscopy



Single and Two-Photon Excitation

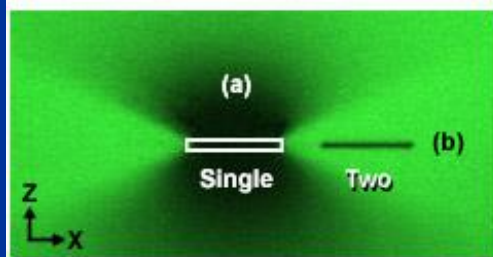


Figure 3

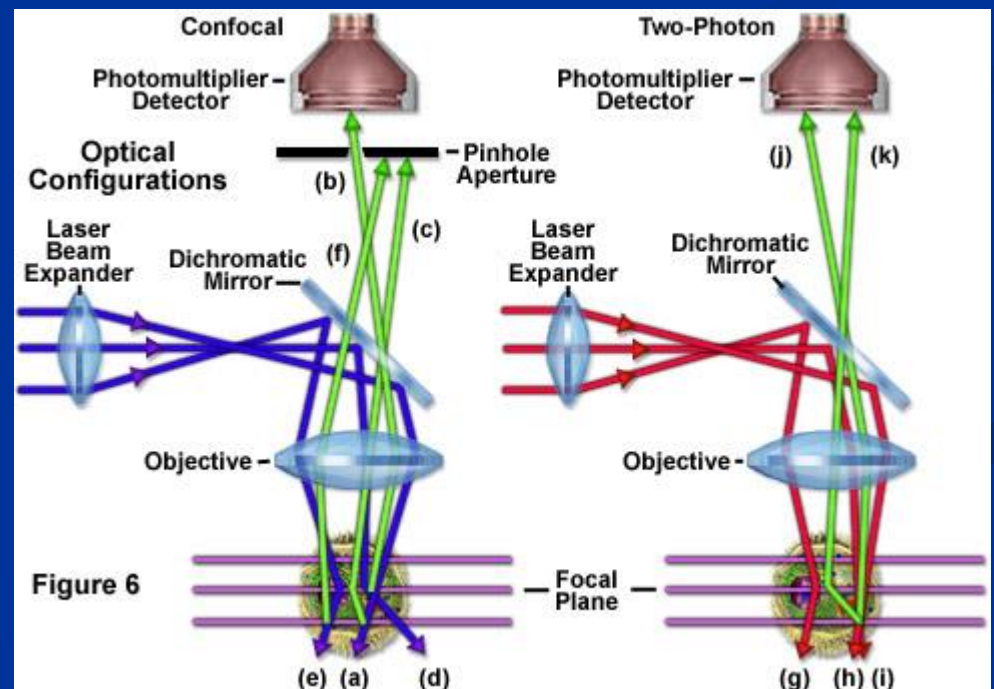
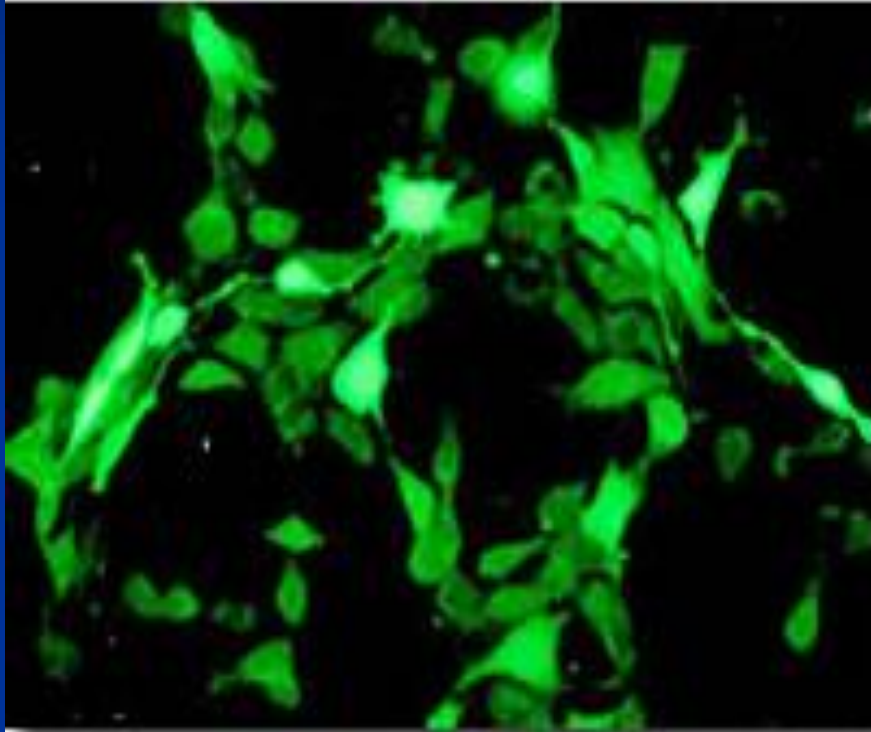


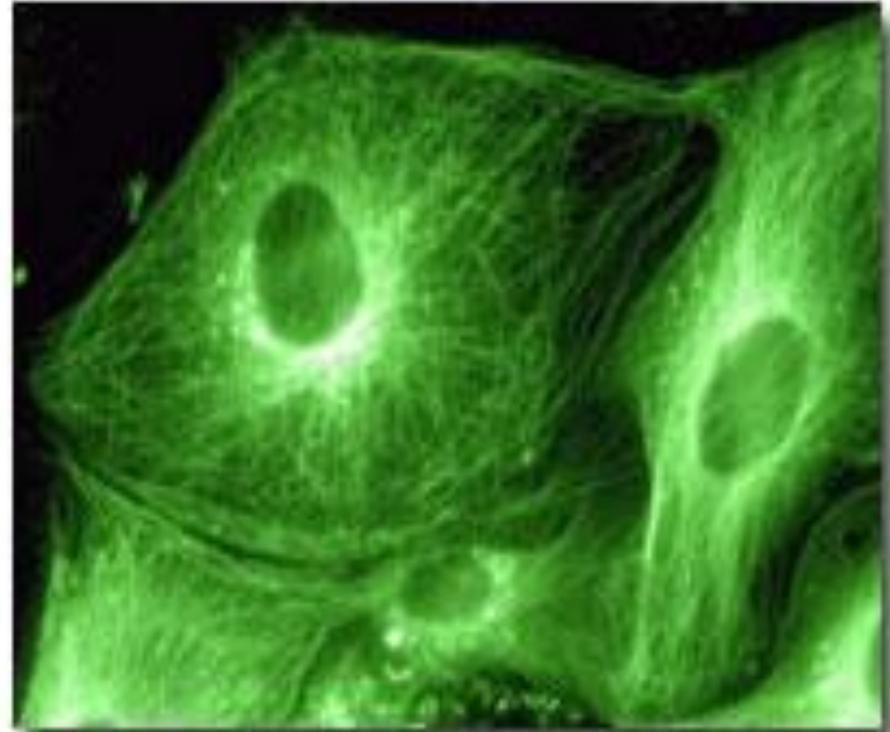
Figure 6

Genetikusán kódolt fluoreszcens protein (GFP)

Green Fluorescent Protein Expression in Living Cells



(a)

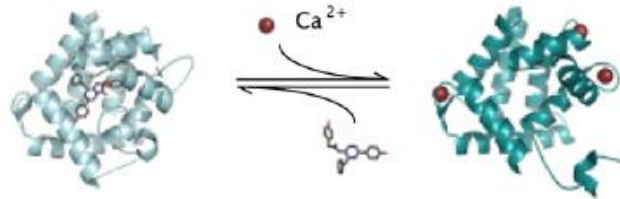


(b)

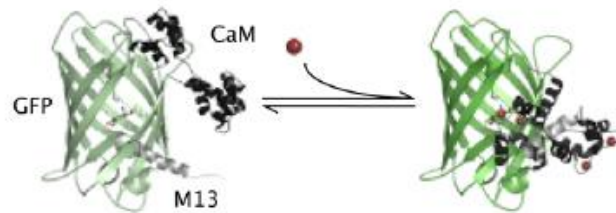
Figure 1

Néhány genetikusan kódolt Ca^{2+} -érzékeny fluoreszcens protein

(a) Aequorin

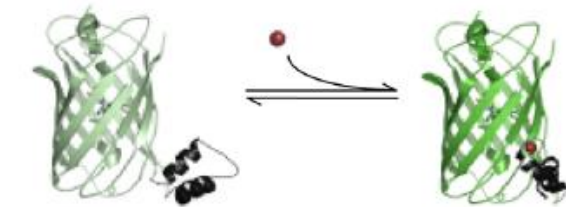


(b) Single FP sensors



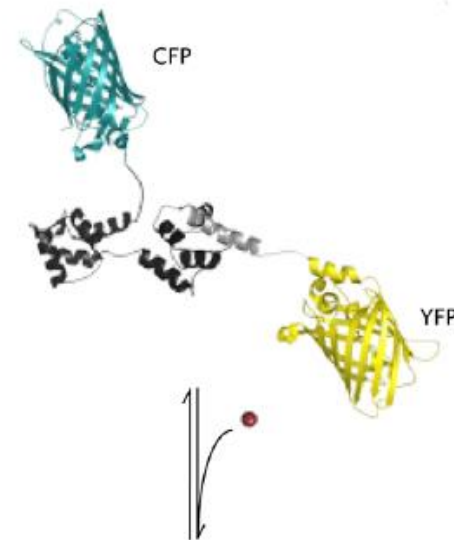
M13	cpGFP	CaM	G-CaMP
M13	cpYFP (T203F)*	CaM	Pericam/Case

(c) Grafted sensors



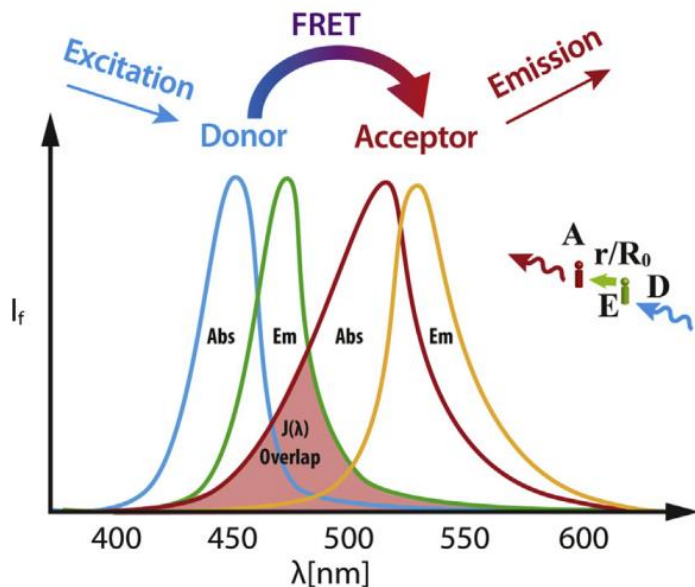
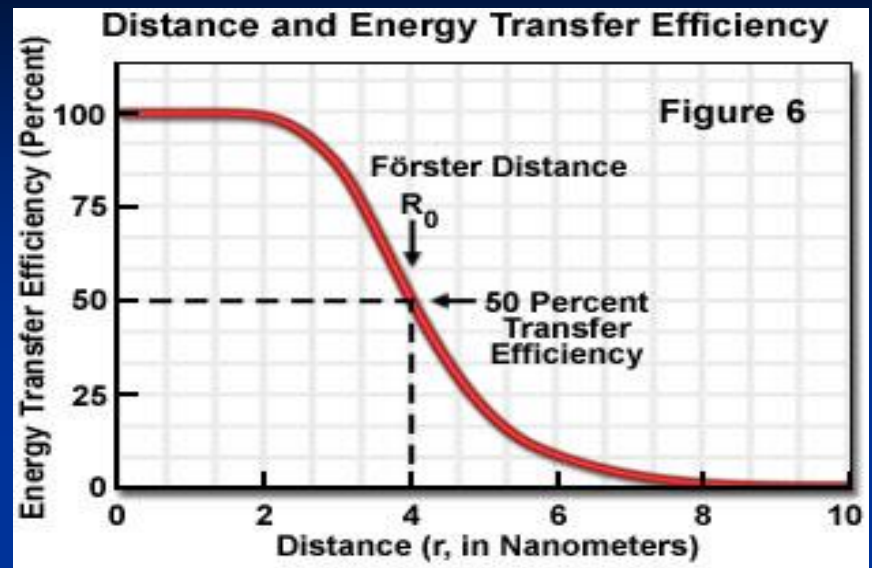
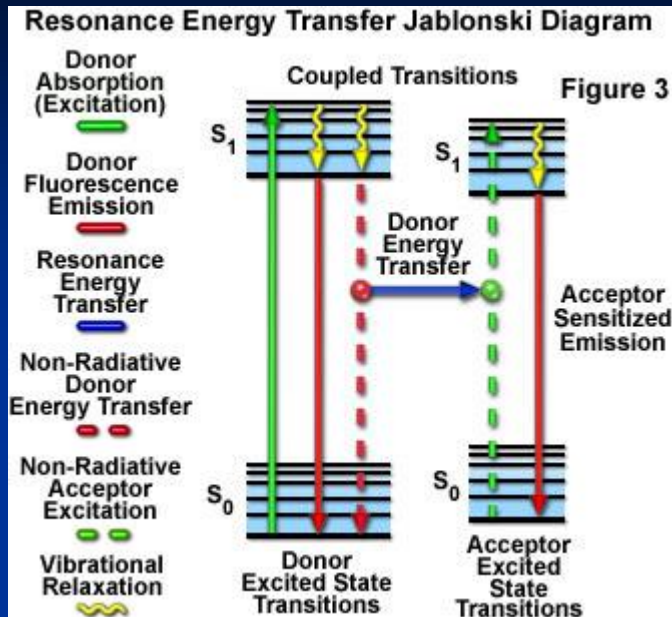
GFP (1-172)	CaM-EIIF	GFP (173-238)	Ca-G1
YFP (1-144)	CaM	YFP (145-238)	Camgaroo

(d) FRET-based sensors

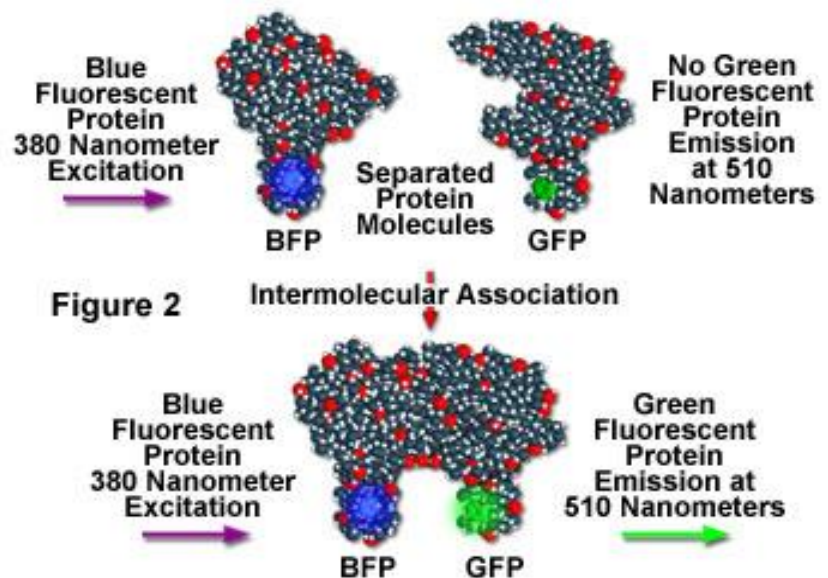


CFP	CaM	M13	YFP	Cameleon
CFP	TnC	YFP		TroponinC-based

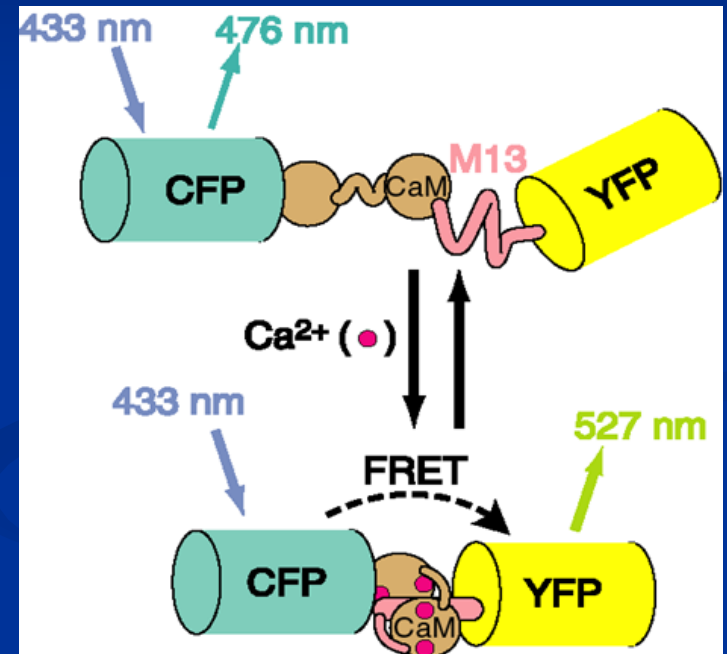
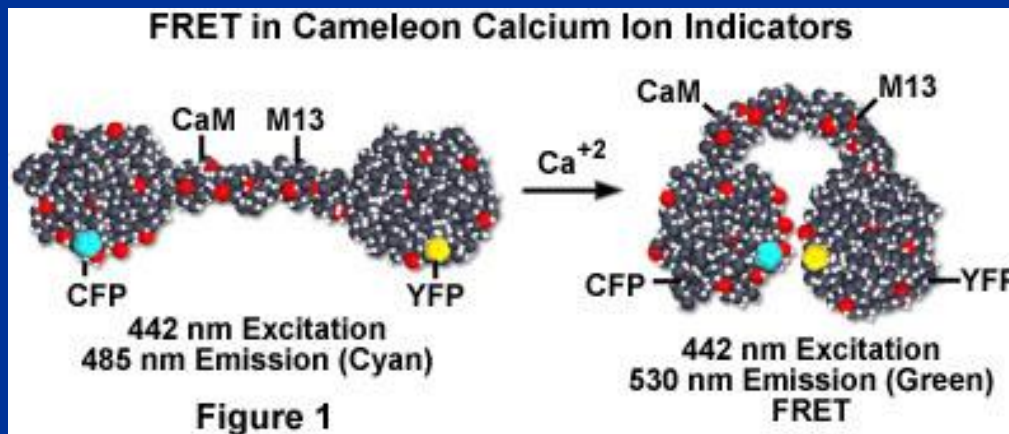
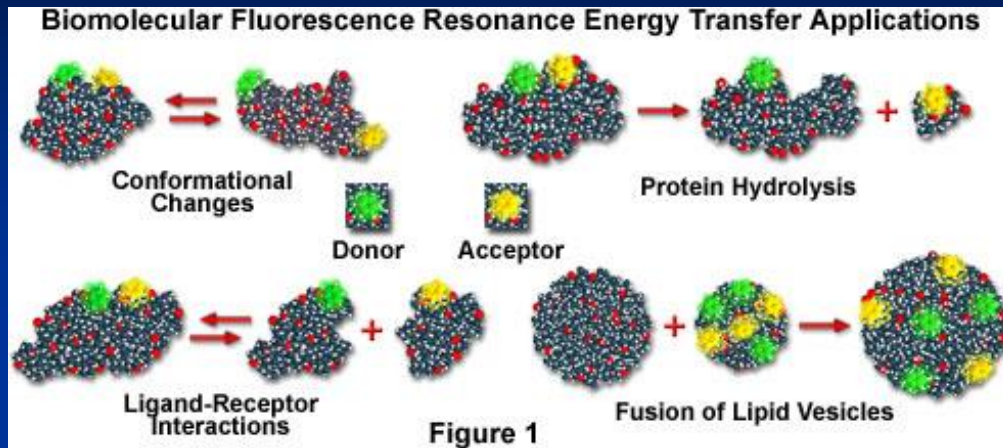
A FRET (Forster Resonance Energy Transfer) alapelvei



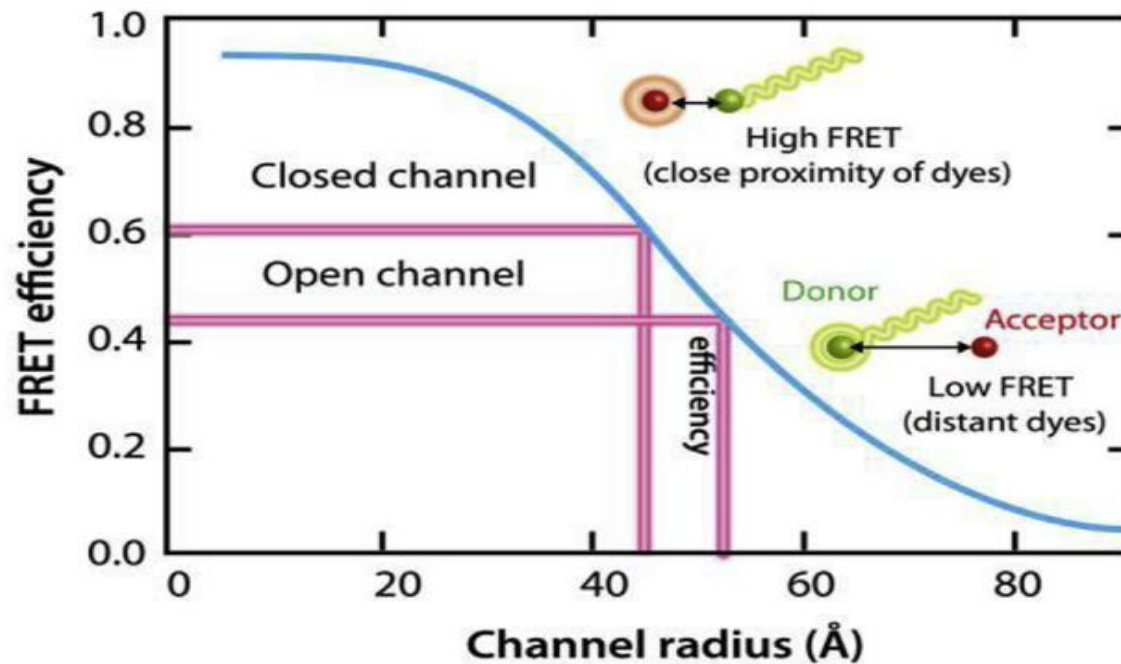
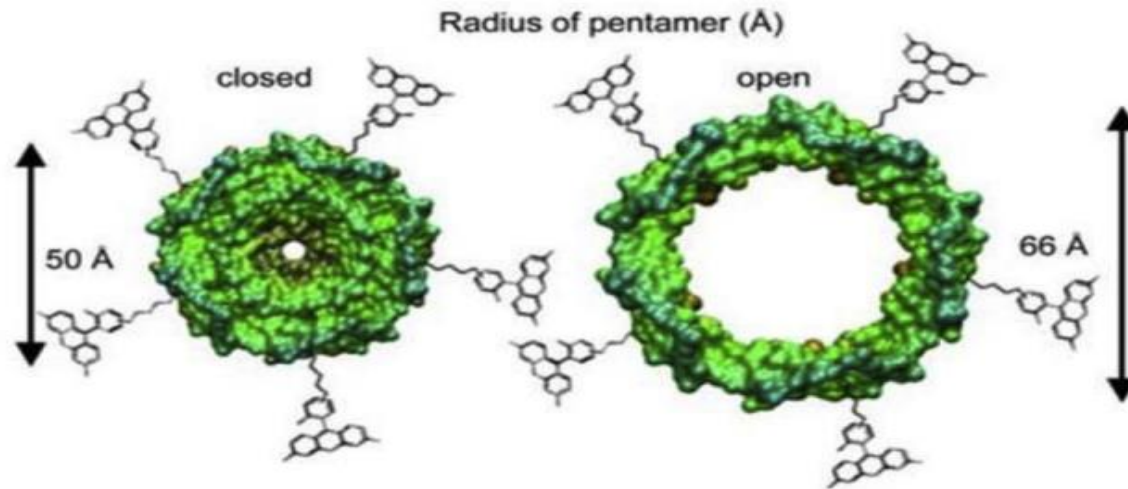
FRET Detection of *in vivo* Protein-Protein Interactions



FRET mikroszkópia használata molekuláris mozgások analízisére, illetve az Ca^{2+} koncentráció mérésére



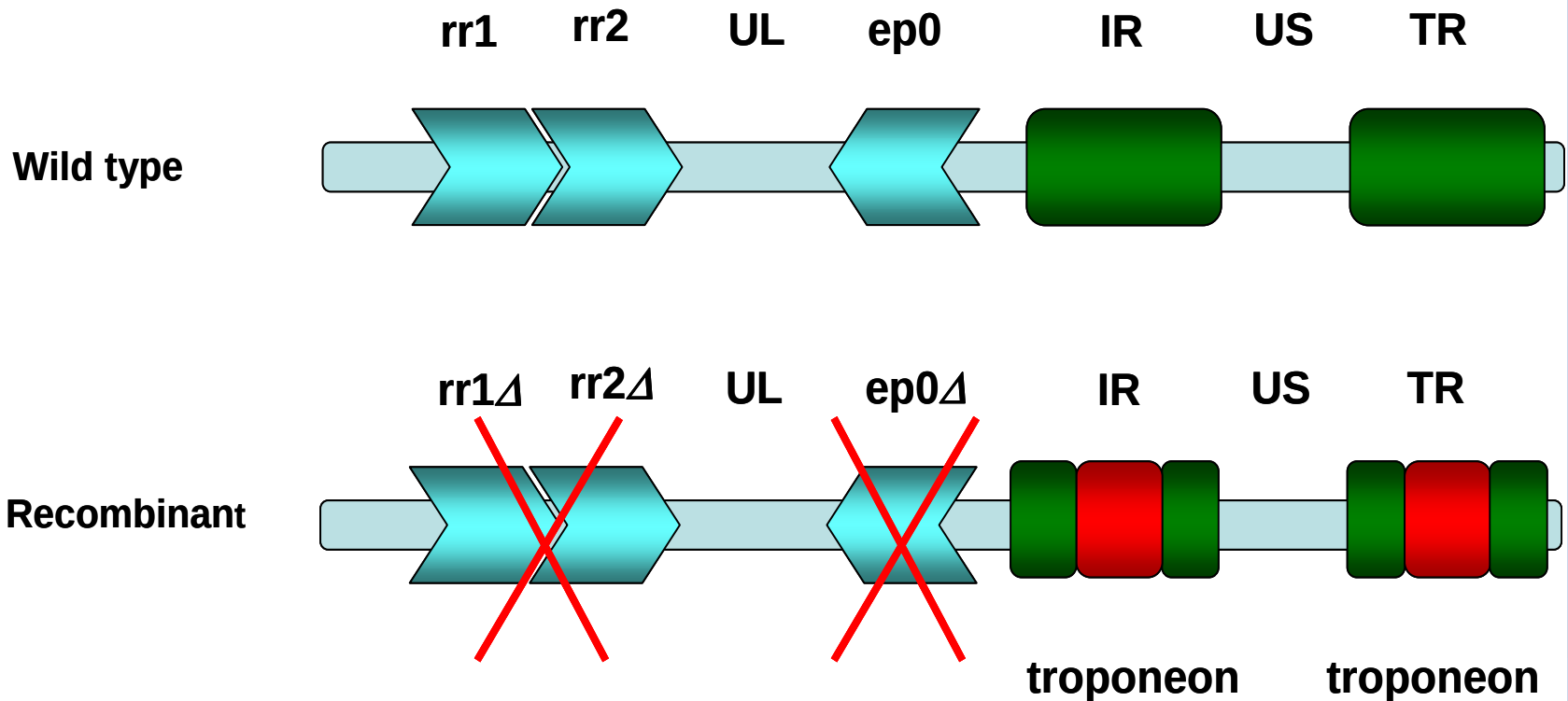
FRET mikroszkópia használata egyetlen ioncsatorna állapotanalízisére



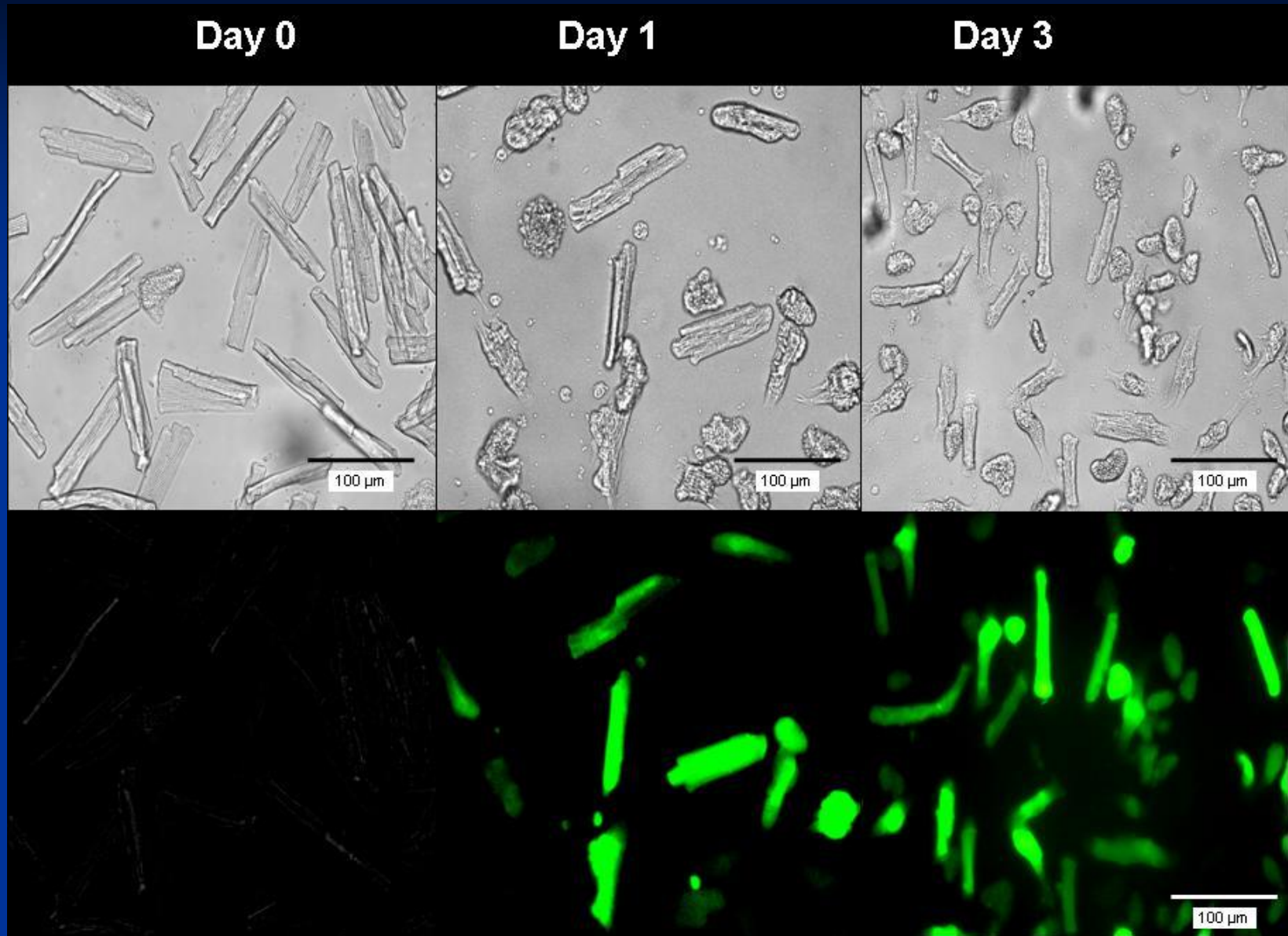
Rekombináns herpesz-vírus klón készítése egy „cameleon” expresszáására primer szívizomsejt kulturában

Figure 1

Pseudorabies virus (PRV)

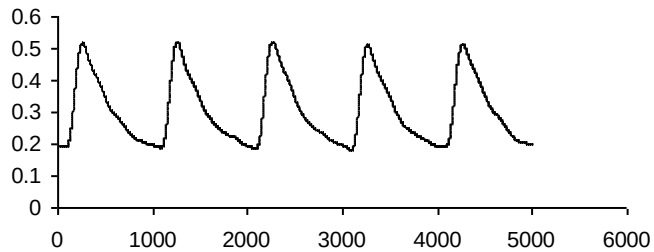


A cameleon expressziója primer szívizomsejt kultúrában

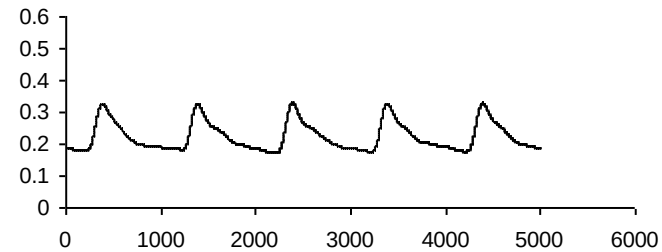


Fluo-4 Ca^{2+} tranziensek primer szívizomsejt kultúrában

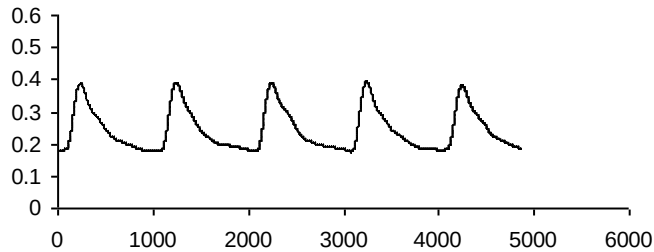
Fresh 0 Day



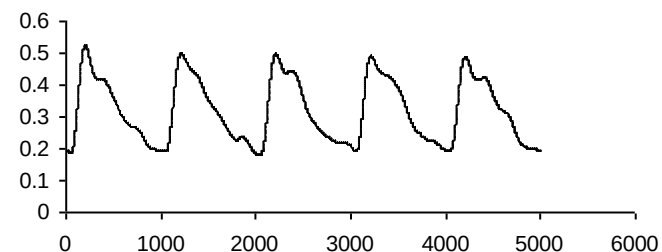
Fresh 0 Day



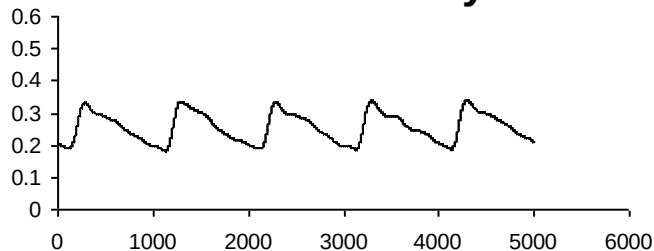
Control 1 Day



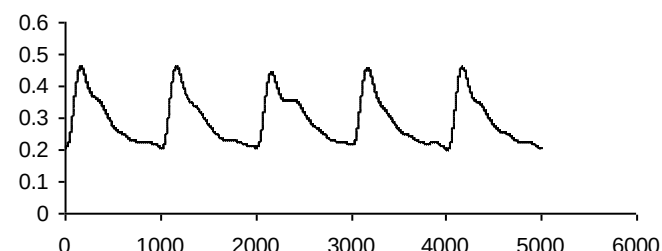
Virus 1 Day



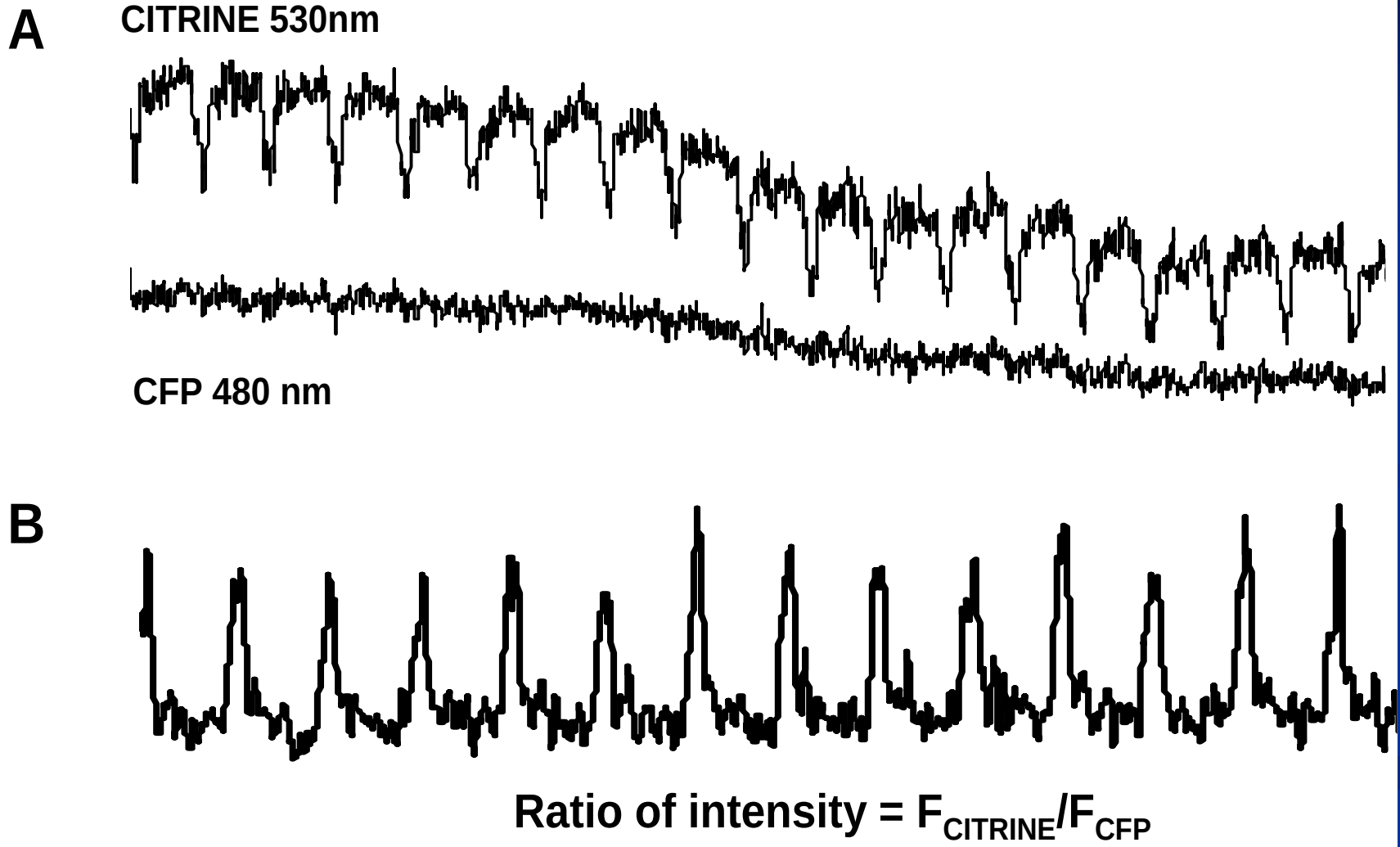
Control 3 Day



Virus 3 Day

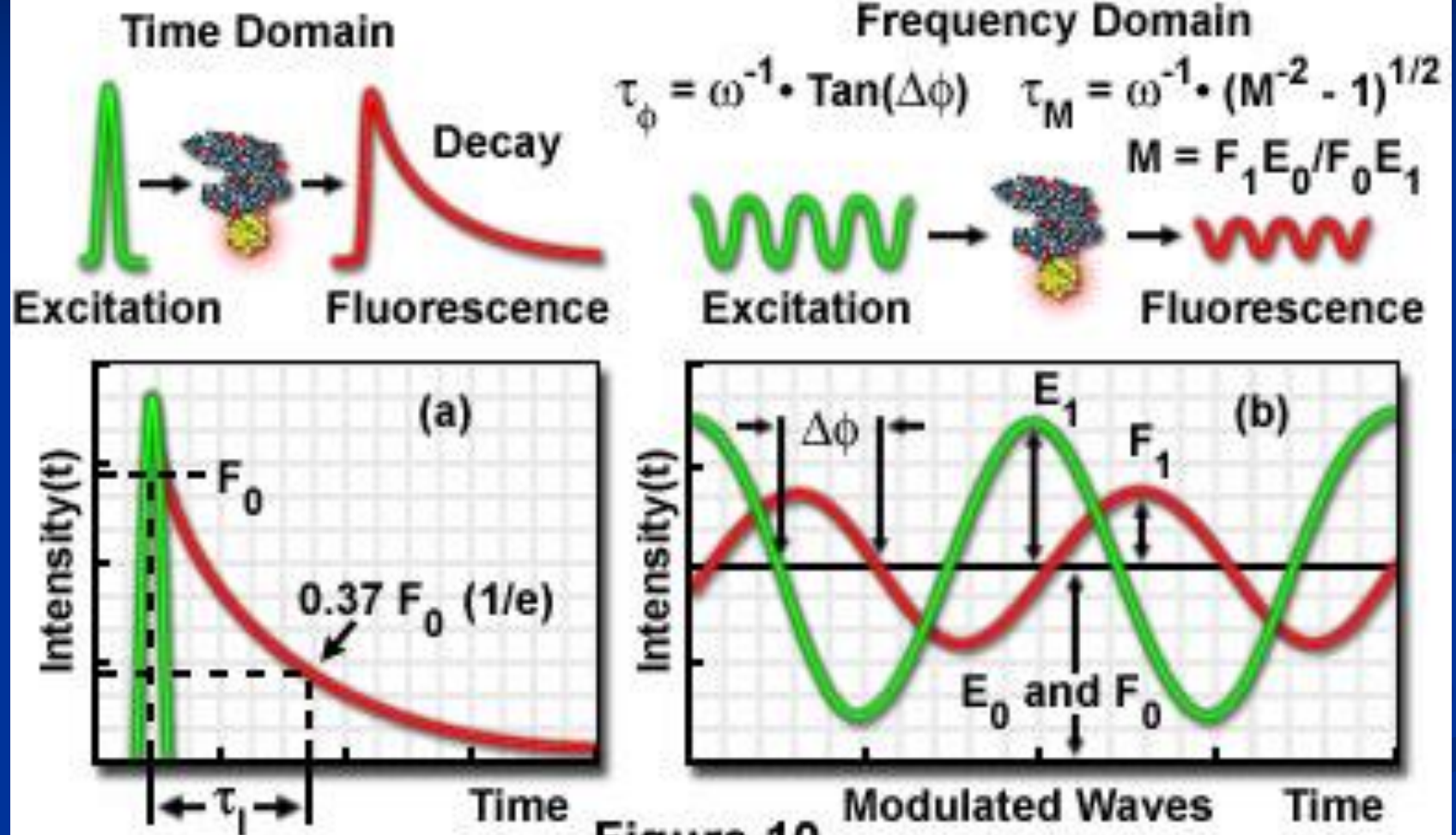


FRET módszerrel meghatározott Ca^{2+} -tranziensek



A fluoreszcencia élettartam mikroszkópia alapelvei

Fluorescence Lifetime Measurements



Összegzés (optikai módszerek)

- Számos optikai módszer elérhető az intra- és transzcelluláris ionmozgások (főleg a Ca^{2+}_i , de egyre gyakrabban a Na^+_i , Mg^{2+}_i , H^+_i , stb.), vagy a membránpotenciál változásainak követésére – izolált sejtektől intakt szervekig, illetve in vivo is, az egyetlen pontban végzett mérésektől a komplex, 3D leképezésig.
- Ion-, illetve potenciál-szenzitív fluoreszcens festékek széles spektruma elérhető – „nonratiometric” vagy „ratiometric”; magas vagy alacsony érzékenységű; UV-től NIR gerjeszthetőséggel.
- A genetikusan kódolt (főleg Ca^{2+}_i -érzékeny) proteinek a sejten belül specifikusan célozhatók, továbbá specifikus sejtfunkciók vizsgálatára is alkalmazhatók (FRET).
- Fluoreszcens mérések történhetnek a citoplazmában, sejtorganellumokban, vagy a membrán-közelben.
- A fluoreszcens mérések egyidejűleg kombinálhatók más optikai vagy nem optikai mérésekkel (akciós potenciál, patch clamp, morfológia, stb.)
- Az alkalmazásra kerülő módszer elsősorban a specifikus céloktól és a használt állatmodelltől függ.

Néhány további példa saját méréseinkből ***

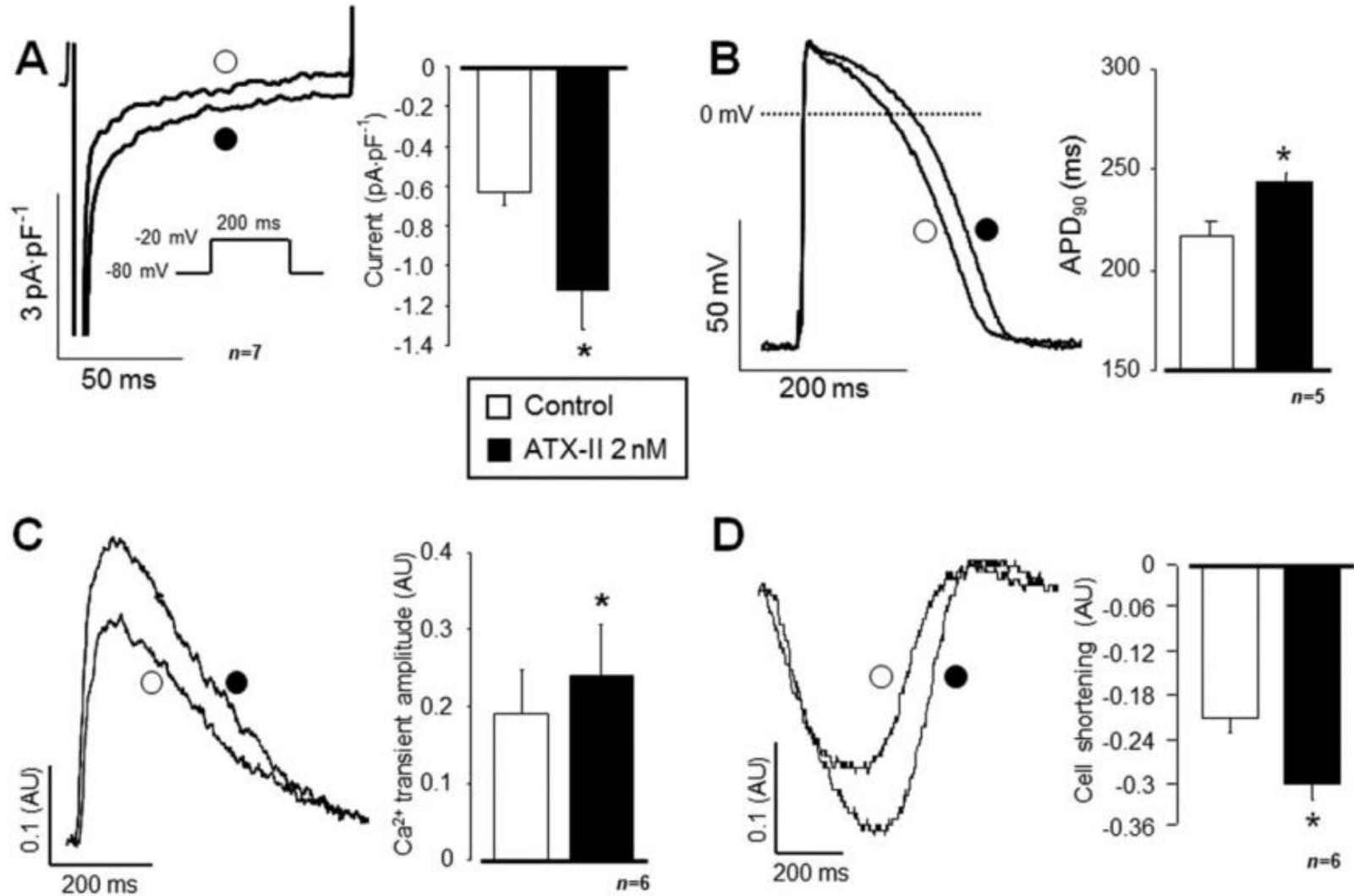
Késői Na^+ áram aritmogén hatásainak vizsgálata

Szelektív NCX gátlás hatása a sejtek túlélésére szimulált iszkémia/reperfúzióban

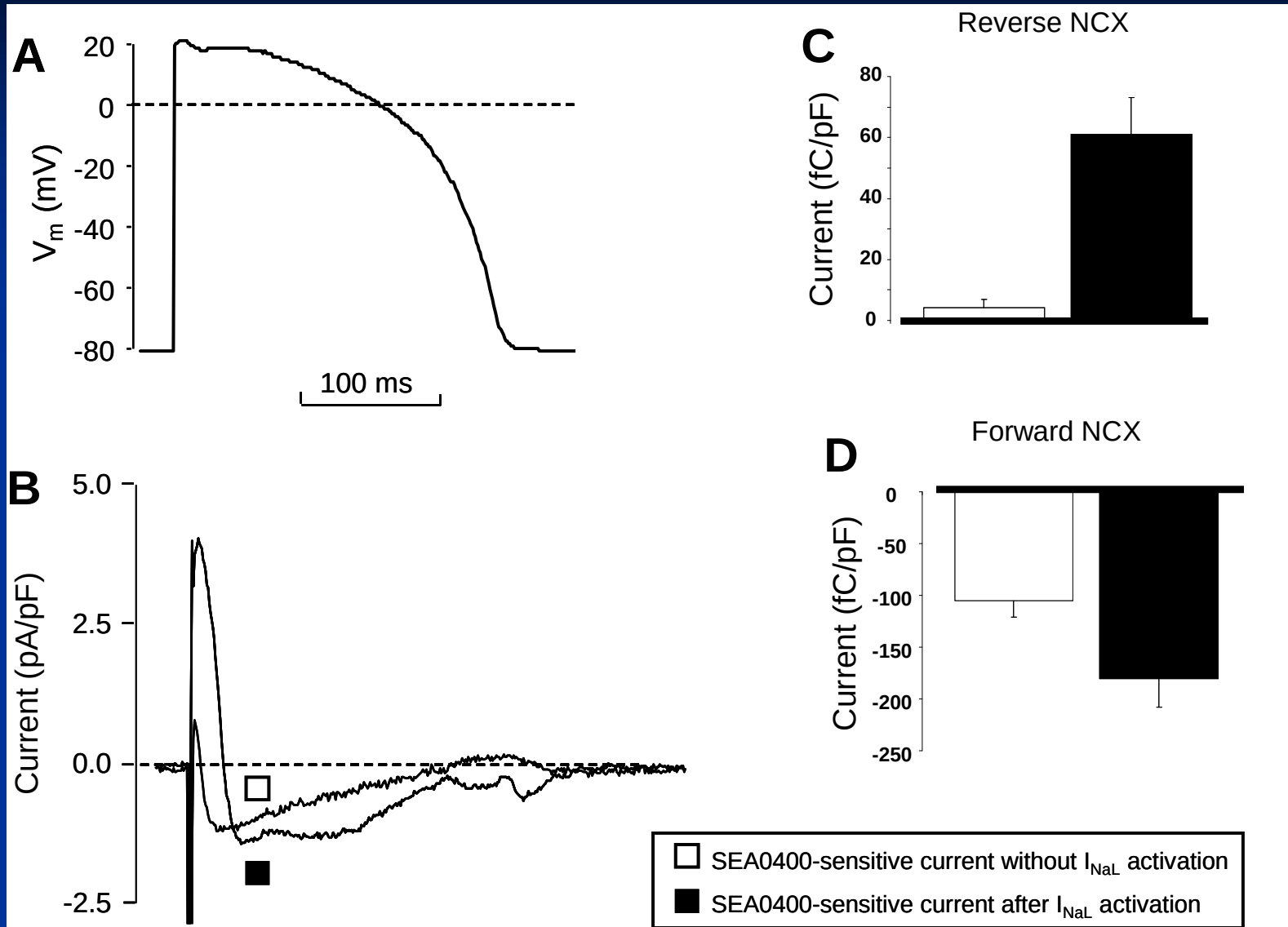
Antiaritmiás kezelés hatása tranziens iszkémia/reperfúzió alatt izolált szíven

Akciós potenciál mapping használata aritmia modellekben

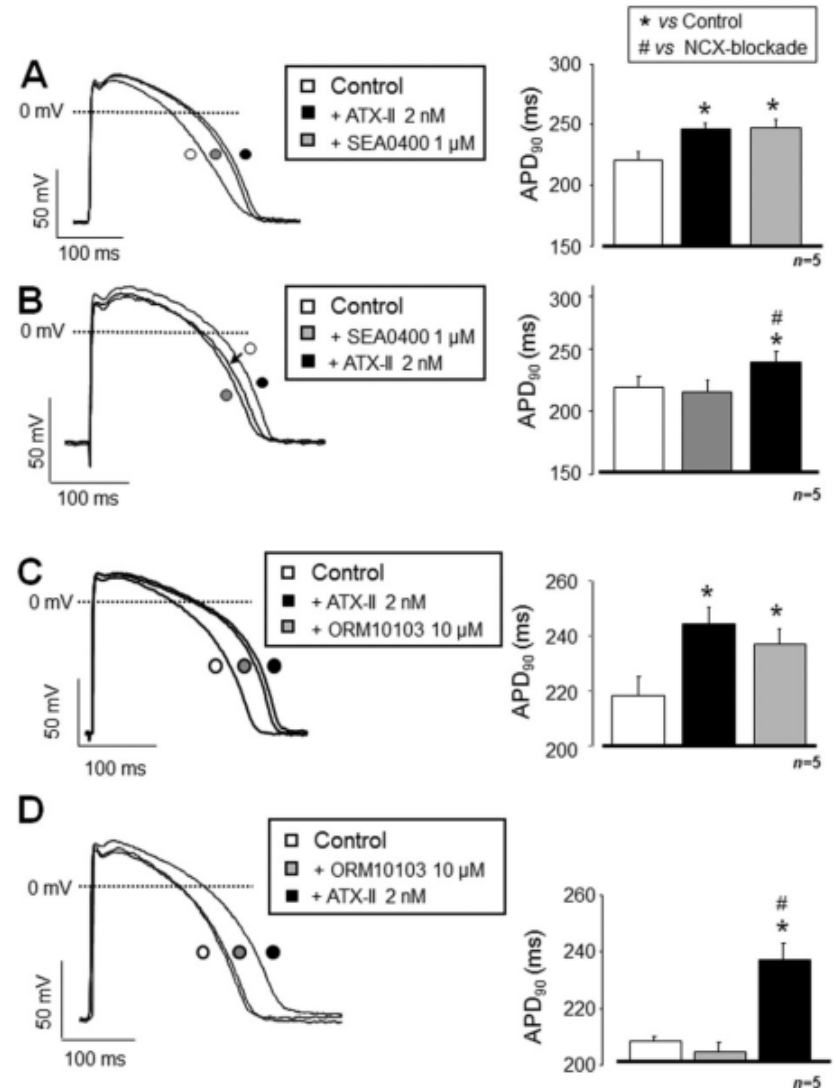
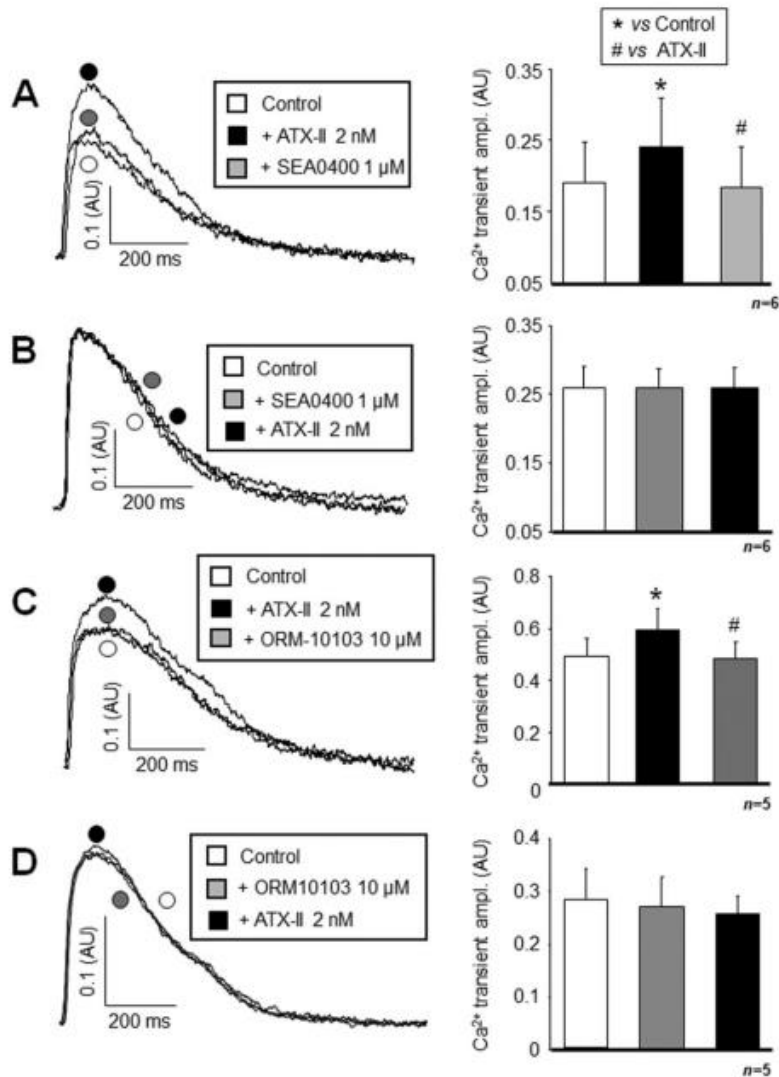
I_{NaL} aktiváció (ATX II) hatása az APD-re, Ca^{2+}_i tranziensre és a sejtrövidülésre izolált kutya kamrai szívizomsejteken



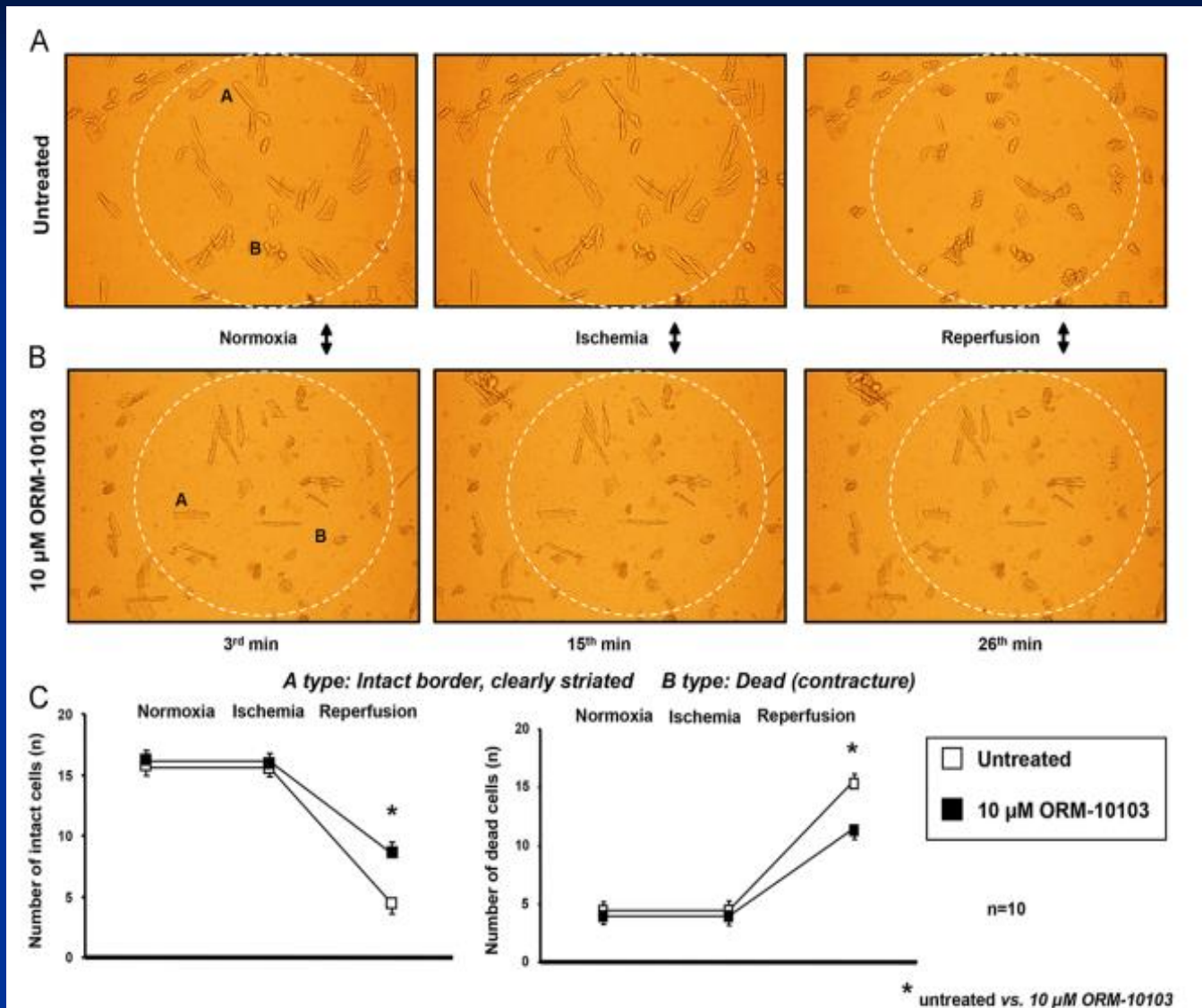
I_{NaL} aktiváció hatása AP clamp alatt a SEA0400-érzékeny áramra ($\sim I_{NCX}$)



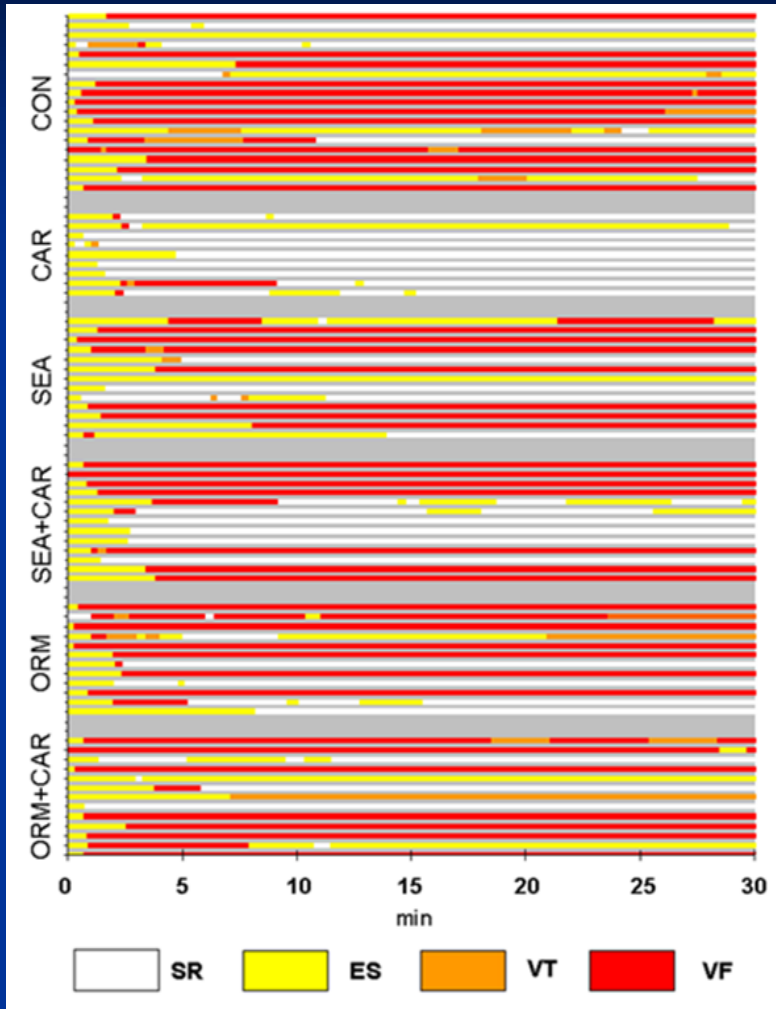
NCX gátlás hatása az ATX-indukált CaT és AP változásokra



Szelektív NCX gátlás (10 mM ORM-10103) hatása a szívizomsejtek túlélésére szimulált iszkémia/reperfúzió során



Patkány izolált szíveken tranziens iszkémia/reperfúziós modellben regisztrált aritmia térképek és eloszlások



Normál színusz ritmus (SR); halmozott extraszisztolék (ES); kamrai tachykardia (VT); kamrafibrilláció (VF)

Szepesi et al.: J Physiol Pharmacol. 2015 66(2):215-26.

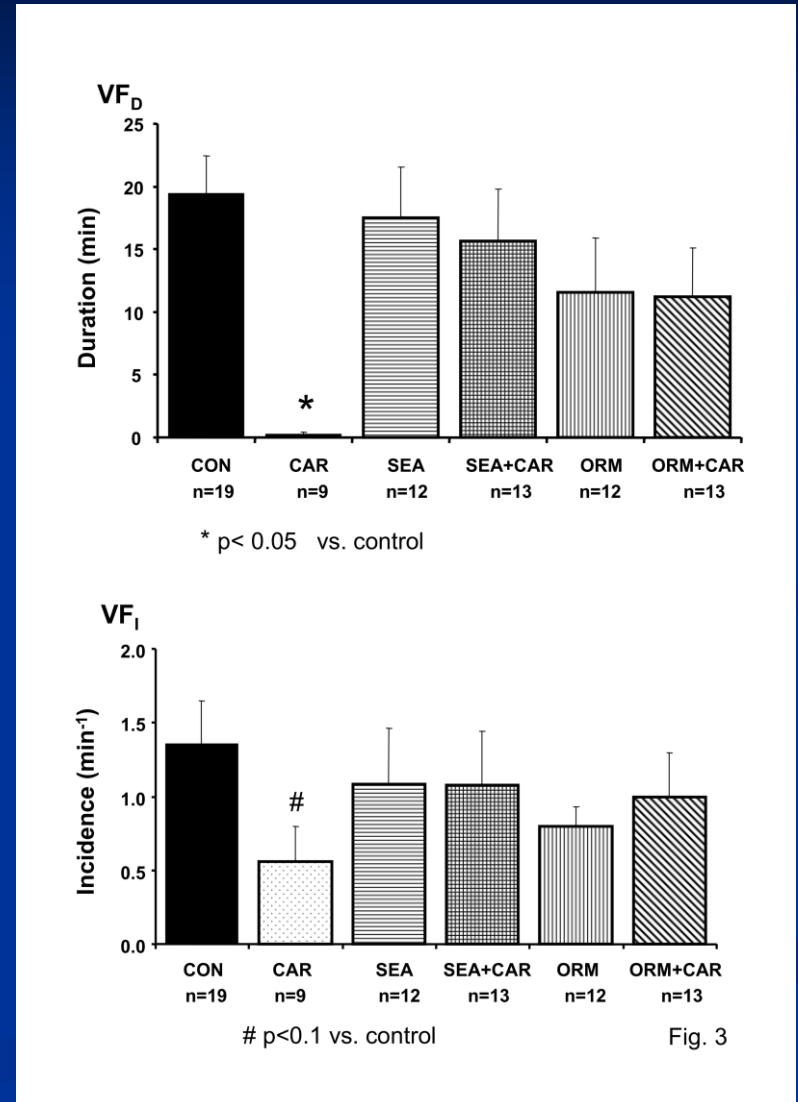
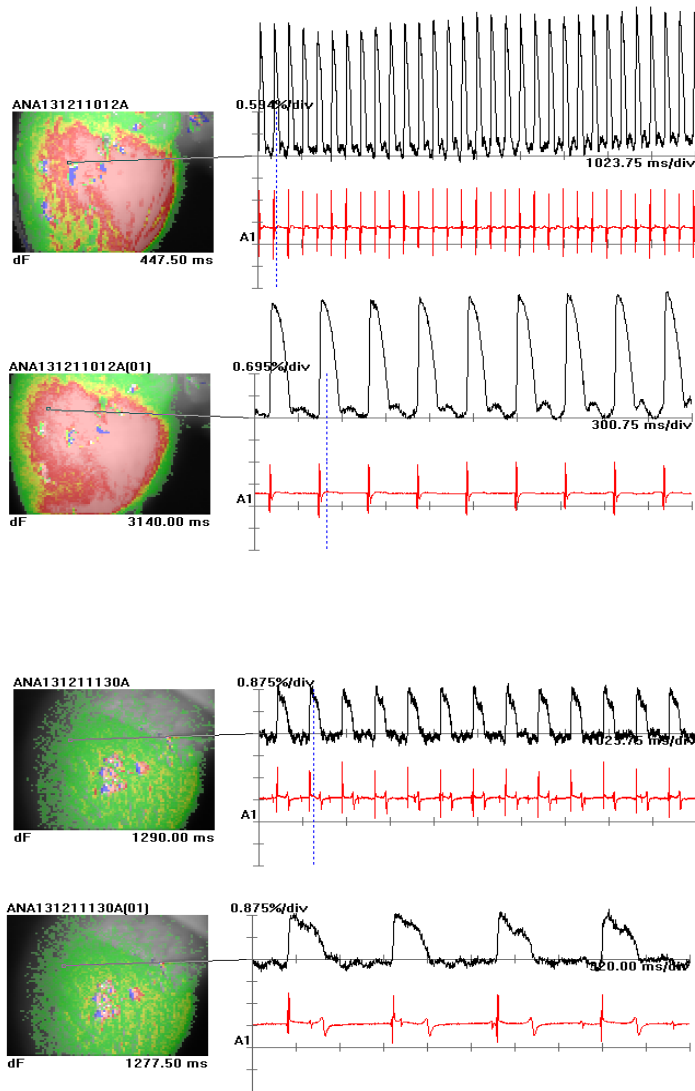


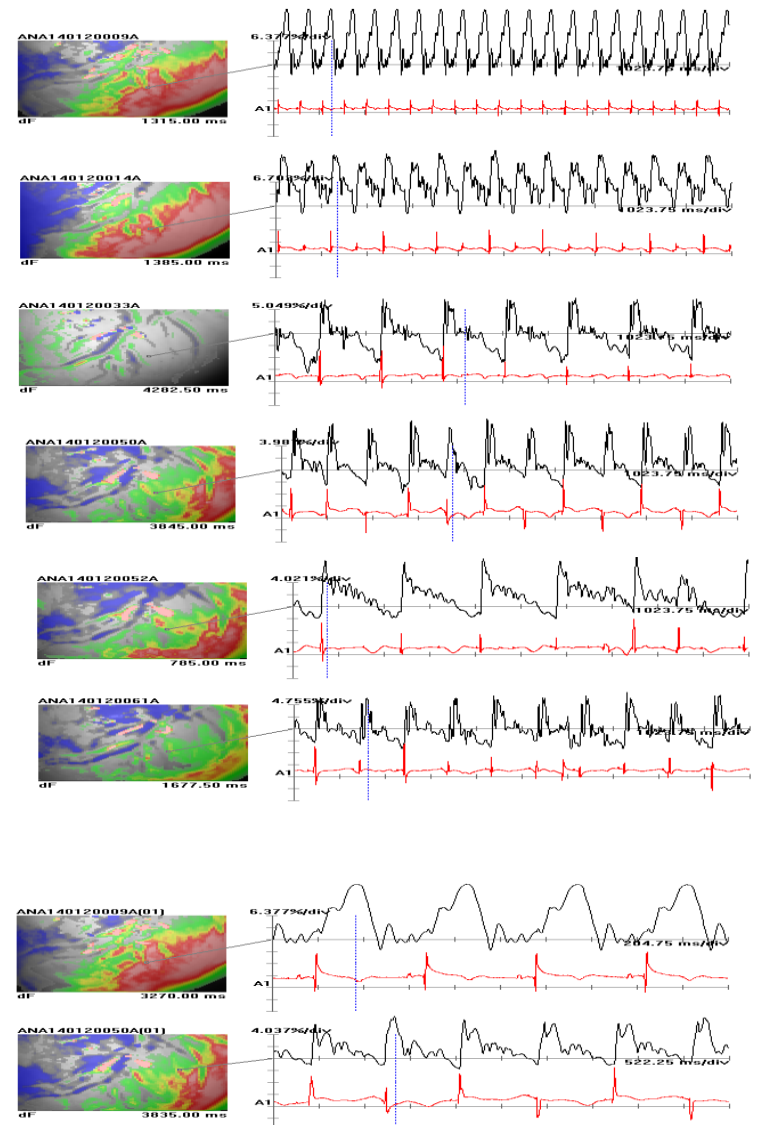
Fig. 3

A VF időtartama és gyakorisága, cariporide, SEA0400 és ORM 10103 kezelt patkány szívekben

Aritmia tanulmányok akciós potenciál „mapping” segítségével



Dofetilid (100 nM) és HMR1556 (500 nM) hatása tengerimalac szíven



Ivabradin + Veratrin hatása nyúl szívén
Blebbistatin jelenlétében

Köszönöm a figyelmet!

