

EKSPERIMENTINIAI TYRIMAI

$I_{K_{ACH}}$ slopiklis 2-[(4-metilfenil)sufonilkarbamido]-1-(4-nitrobenzil) piridinio bromidas (2-AP27) yra muskarino M_2 receptorių antagonistas

Vytenis Arvydas Skeberdis, Vida Gendvilienė, Danguolė Zablockaitė,
Irma Martišienė, **Antanas Stankevičius**

Kauno medicinos universiteto Kardiologijos institutas

Raktažodžiai: miokardo ląstelės, karbacholis, adenosinas, sulfonilkarbamidinis 2-amino-piridino darinys 2-AP27, L-tipo Ca^{2+} srovė.

Santrauka. Aminopiridiniai yra žinomi acetilcholino aktyvintos kalio srovės ($I_{K_{ACH}}$) slopikliai. Tyrėme, ar 2-aminopiridino sulfonilkarbamidinio darinio 2-AP27 anticholinerginis poveikis varlės miokardo ląstelių izoprenalinu stimuliuotai L-tipo Ca^{2+} srovei yra sąlygotas šio junginio savybe blokuoti muskarino M_2 receptorių.

Izoliuotų miokardo ląstelių L-tipo Ca^{2+} srovę (I_{CaL}) registravome fiksuotos įtampos metodu. β_1 - β_2 – adrenoreceptorių agonistas izoprenalinas ($0,1 \mu M$) padidino miokardo ląstelių I_{CaL} iki 475 ± 61 proc. ($n=4$) ($p<0,05$) palyginus su kontrole. M_2 muskarino receptorių agonistas karbacholis ($0,01 \mu M$) sumažino ją iki 42 ± 15 proc. palyginus su I_{CaL} dydžiu veikiant izoprenalinui. 2-aminopiridino darinys 2-AP27 ($100 \mu M$) šiomis sąlygomis padidino I_{CaL} iki $95 \pm 5,8$ proc., t. y. visiškai panaikino slopinamąjį karbacholio poveikį. Kitoje eksperimentų serijoje A_1 -adenozino receptorių agonistas adenosinas ($1 \mu M$) izoprenalinu stimuliuotą I_{CaL} sumažino iki 56 ± 10 proc. ($n=3$) ($p<0,05$). Veikiant 2-AP27 ($100 \mu M$) junginiui, adenosino sumažinta I_{CaL} išliko beveik nepakitusi ir buvo $51 \pm 7,9$ proc. ($n=3$) ($p<0,05$) palyginus su I_{CaL} dydžiu veikiant izoprenalinui. Šie rezultatai rodo, kad 2-aminopiridino darinys 2-AP27, kurio amino grupė pakeista 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentu, ir piridino azotas, kvaternizuotas 4-nitrobenzilo bromidu, yra muskarino M_2 receptorių antagonistas.

Įvadas

Eksperimentiniai ir klinikiniai tyrimai rodo, kad, stimuliuojant miokardo ląstelių muskarino M_2 receptorių, ar padidėjus parasimpatinės nervų sistemos aktyvumui, didėja išeinanti iš ląstelių K^+ srovė ($I_{K_{ACH}}$) per aktyvuotus K_{ACH} kanalus, o tai sukelia miokardo ląstelių veikimo potencialų (VP) trukmės sumažėjimą, refrakterinio laikotarpio sutrumpėjimą bei prieširdžių fibriliaciją ir tachiaritmijas (1–3). Daugelį metų širdies ritmui reguliuoti vartojami III klasės antiaritmiškai *d,l*-sotalolas, amiodaronas, 2- ar 4-aminopiridiniai, kurie slopina įtampa valdomų kalio kanalų srovę, taip pat pasižymi anticholinerginėmis, t. y. K_{ACH} kanalus blokuojamosiomis savybėmis (4, 5). Tačiau šie vaistai, ilgindami VP trukmę, repolarizacijos fazę bei QT intervalą ir lėtindami laidumą, gali sukelti *reentry* tipo aritmijas ir polimorfinę skilvelių tachikardiją (pranc. *torsades de pointes*) (6, 7). Be to, dėl neselektyviai

blokuojamų įvairių tipų K^+ kanalų jie gali sukelti daug kitų nepageidaujamų reakcijų (8, 9). Ieškodami veiksmingų ir selektyvių preparatų, reguliuojančių jonų kanalų, lemiančių miokardo ląstelių veikimo potencialų repolarizaciją bei trukmę ir refrakterinį laikotarpį, KMU Kardiologijos instituto mokslininkai sintetino naujus 2-aminopiridino darinius, prijungę 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentą prie piridino žiedo (junginys 2-AP21) ir papildomai kvaternizavę piridino žiedo azotą metilo jodidu (2-AP22 junginys), alilo bromidu (2-AP26) arba 4-nitrobenzilo bromidu (2-AP27 junginys).

Anksčiau mūsų atlikti eksperimentiniai šių junginių poveikio tyrimai jūrų kiaulytės prieširdžių VP-ų trukmei ir susitraukimo jėgai aktyvintų muskarino M_2 receptorių ir K_{ACH} kanalų sąlygomis parodė, kad šie junginiai pasižymi anticholinerginėmis savybėmis, t. y. didina šių receptorių agonisto karbacholio suma-

Adresas susirašinti: V. Gendvilienė, KMU Kardiologijos institutas, Sukilėlių 17, 50161 Kaunas

El. paštas: membiof@kmu.lt

žintą prieširdžių VP-ų trukmę ir susitraukimo jėgą (10). Efektyviausiu anticholinerginiu poveikiu pasižymėjo 2-AP27 junginys, t. y. 2-AP darinys su 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentu, kuriame piridino žiedo azotas kvaternizuotas 4-nitrobenzilo bromidu. Tačiau tiksli šio junginio veikimo vieta nežinoma.

Muskarino M_2 receptorių stimuliavimas šių receptorių agonistais karbacholiu ar iš poganglinių skaidulų išsiskyrusiu acetilcholinu, padidėjus parasimpatinės nervų sistemos tonusui ar dirginant klajoklį nervą, aktyvina G_i baltymus ir jų valdomus K_{ACh} kanalus. Dėl to padidėja K^+ srovė per šiuos kanalus (I_{KACh}) bei sumažėja veikimo potencialų trukmė (1, 2, 5, 11). Taigi, sulfonilkarbamidinis 2-aminopiridino darinys 2-AP27 galėjo arba tiesiogiai blokuoti muskarino M_2 receptorių, arba K_{ACh} kanalus, arba slopinti kokliušo (*pertussis*) toksinui jautrų G_i baltymo aktyvumą.

Žinoma, kad, perduodamas signalą per G_i baltymus, karbacholis ar acetilcholinai slopina adenilciklazės aktyvumą, todėl mažėja cAMP gamyba, L-tipo Ca^{2+} kanalų fosforilinimas ir Ca^{2+} jonų srovė per šiuos kanalus (I_{CaL}) bei nuo jos priklausoma susitraukimo jėga (2, 12). Todėl vienas iš būdų nustatyti 2-AP27 junginio veikimo vietą yra izoliuotų miokardo ląstelių izoprenalinu aktyvintos L-tipo Ca^{2+} srovės matavimas, veikiant muskarino M_2 ir kito tipo su G_i baltymais susijusių receptorių (pvz., adenosino receptorių A_1) agonistams bei tiriamajai 2-AP27 medžiagai. Todėl tyrėme 2-AP27 junginio įtaką varlės miokardo ląstelių izoprenalinu stimuliuotai L-tipo Ca^{2+} srovei, ją slopindami karbacholiu per M_2 receptorių arba adenosinu – per adenosino A_1 receptorių.

Tyrimo medžiaga ir metodai

Varlės širdies ląstelių izoliavimas

Vienetiniai varlės (*Rana temporaria*) širdies kardiomiocitai išskiriami fermentinio izoliavimo metodu. Varlės širdis izoliuojama prieš tai specialia adata suardžius jos stuburo ir galvos smegenis. Petri lėkštelėje, pripildytoje atšaldytu ir deguonimi įsotintu izoliuojamuoju tirpalu (mM) – NaCl 113, KCl 2,5, CaCl_2 0,08, MgCl_2 1,8, NaHCO_3 5, NaH_2PO_4 0,5, Na kreatinfosfatas 5, D-gliukozė 5, Na piruvatas 5, HEPES 15 (pH sureguliuotas 1 M NaOH tirpalu iki 7,4), širdis per aortą prijungiama prie Langendorfo perfuzinės sistemos ir 10–15 min. retrogradiškai perfuzuojama 30°C temperatūros bekalciu izoliuojamuoju tirpalu su jaučio kraujo serumo albuminu (JSA) (1 mg/ml) ir 20 μM EGTA (perfuzijos greitis – apie 4 ml/min.). Po to širdis perfuzuojama (10 min.) izoliuojamuoju tirpalu su jungiamąjį audinį ardančiais fermentais: kolagenaze (Yacult S; 500 U/mg aktyvumo) ir tripsinu

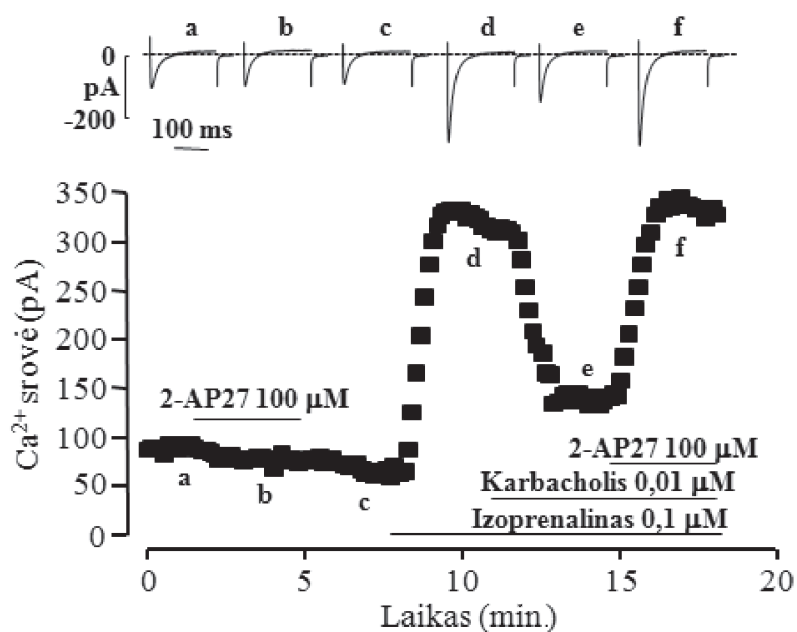
(tipas XIII, Sigma). Visą izoliavimo laiką širdis laikoma termostatuojamoje kameroje (30°C temperatūroje). Po perfuzijos fermentais širdis praplaunama izoliuojamuoju tirpalu (25 ml) su JSA (1 mg/ml) ir perkeliama iš Langendorfo perfuzinės sistemos į indelį su izoliuojamuoju tirpalu, kuriame, švelniai purtant, išskiriami vienetiniai kardiomiocitai.

Ca^{2+} srovės per L-tipo Ca^{2+} kanalus registravimas

Izoliuotų varlės kardiomiocitų L-tipo Ca^{2+} srovė (I_{CaL}) registruojama fiksuotos įtampos metodu (angl. *patch-clamp*), perkėlus ląsteles į išorinį fiziologinį tirpalą (mM): NaCl 107, MgCl_2 1,8, CaCl_2 1,8, CsCl 20, NaHCO_3 4, NaH_2PO_4 0,8, D-gliukozė 5, natrio piruvatas 5, Hepes 10. Tirpalo pH – 7,4 nustatomas tirpalą titruojant NaOH (1 M). Ląstelę prisiurbiant mikropipetės užpildomos vidiniu tirpalu (mM): CsCl 120, MgCl_2 4, CaCl_2 0,062, EGTA 5, Na kreatinfosfatas 5, Na_2ATP 3, Na_2GTP 0,42, Hepes 10. Tirpalo pH 7,3 nustatomas tirpalą titruojant CsOH (1 M). Registruojant ląstelės I_{CaL} , visos K^+ jonų srovės nuslopinamos tiek išoriniame, tiek vidiniame tirpaluose K^+ jonus pakeičiant Cs^+ jonais. Na^+ kanalų blokavimui varlės kardiomiocituose į išorinį fiziologinį tirpalą dedama 3 μM šių kanalų blokatoriaus tetrodotoksino (TTX). Tirdami 2-aminopiridino darinio 2-AP27 poveikį karbacholio (0,01 μM) sumažintai I_{CaL} , naudojome 100 μM jo koncentraciją, t. y. koncentraciją, kuri 50 proc. padidina karbacholio sumažintą miokardo veikimo potencialų trukmę (EC_{50}), nustatytą sulfonilkarbamidinių 2-AP darinių anticholinerginio poveikio tyrimų metu (10).

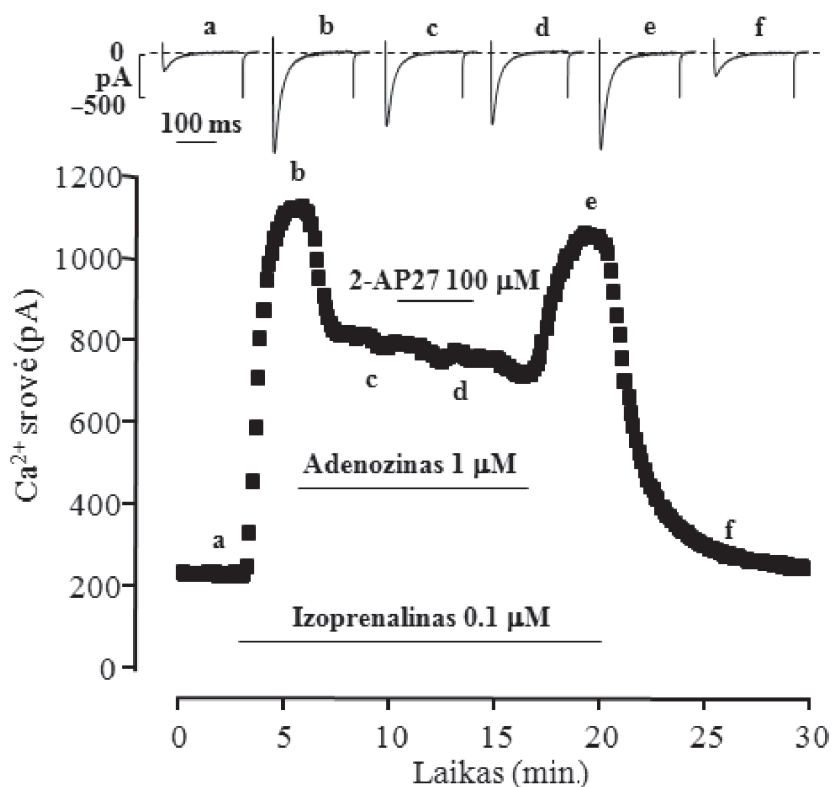
L-tipo Ca^{2+} jonų srovei registruoti ir analizuoti naudojamas *patch-clamp* stiprintuvas VP500 (Biologic, Prancūzija) bei programinė įranga (Visual-Patch v1.30, Bio-logic, Prancūzija). I_{CaL} registruoti ląstelę depoliarizuojama kas 8 sekundes nuo –80 mV palaikomo pastovaus ramybės potencialo iki 0 mV, impulso trukmė – 200 ms. I_{CaL} amplitudė laikomas skirtumas tarp registruojamos srovės maksimumo ir srovės, registruojamos depoliarizuojamojo impulso 200-ąją ms.

Eksperimentai atliekami tik su tais kardiomiocitais, kuriuose nebuvo matomų formos ar struktūros pokyčių. Tirpalai ties tiriamąja ląstele keičiami automatinio tirpalų keitikliu „RSC-200“ (Bio-logic, Prancūzija) ir pateikiami per 800 mm skersmens kapiliaro angą. Tirpalo tėkmės greitis – 150 $\mu\text{l}/\text{min}$. Visi prie ląstelės tiekiami tirpalai nufiltruojami 0,45 μm filtrais. Eksperimentai atliekami kambario temperatūroje (17–22°C), kuri eksperimentų metu nepakinta daugiau nei vienu laipsniu.



1 pav. Karbacholio ir sulfonilkarbamidinio 2-aminopiridino darinio 2-AP27 įtaka varlės miokardo ląstelės izoprenalinu stimuliuotai L-tipo Ca^{2+} srovei

Junginys 2-AP27 pašalina slopinamąjį karbacholio poveikį izoprenalinu stimuliuotai miokardo ląstelės L-tipo Ca^{2+} srovei (paveiklo viršuje – eksperimento metu registruotos L-tipo Ca^{2+} srovės kreivės).



2 pav. Adenozino ir sulfonilkarbamidinio 2-aminopiridino darinio 2-AP27 įtaka varlės miokardo ląstelių izoprenalinu stimuliuotai L-tipo Ca^{2+} srovei

2-AP27 junginys nedidino adenozinu sumažintos L-tipo Ca^{2+} srovės, stimuliuotos izoprenalinu (paveiklo viršuje – eksperimento metu registruotos L-tipo Ca^{2+} srovės kreivės).

Eksperimentų metu naudojamos mikropipetės gaminamos elektrodų tempikliu (PP-830, Narishige, Japonija) iš stiklo vamzdelių su kapiliaru (Drummond, JAV) ir užpildomos vidiniu tirpalu. Mikropipečių varža – 0,6–1,3 m Ω .

Eksperimentiniai duomenys analizuojami „Bio-Logic Bio-Patch“ (Patch Clamp Analysis Software – version 3.30) ir „MS Excel 2000“ programine įranga. I_{CaL} pokytis išreiškiamas procentais, 10 proc. prilyginus bazinės I_{CaL} amplitudę arba izoprenalinu stimuliuotos I_{CaL} amplitudę. Tekste pateikiami eksperimentinių duomenų vidurkiai plius/minus vidutinė standartinė paklaida. Rezultatų patikimumas įvertintas Stjudent'o (t) testu. Skirtumai tarp vidurkių statistiškai reikšmingi, kai $p < 0,05$.

Rezultatai

Varlės miokardo ląstelių L-tipo Ca^{2+} srovės amplitudė kontrolės sąlygomis, t. y. jas perfuzuojant išoriniu fiziologiniu tirpalu (žr. Tyrimų medžiaga ir metodai), buvo 183 ± 33 pA ($n=6$). β_1 - β_2 – adrenoreceptorių agonistas izoprenalinas (0,1 μM), įdėtas į šį tirpalą, padidino miokardo ląstelių I_{CaL} iki 475 ± 61 proc. ($n=4$) ($p < 0,05$) palyginus su kontrole. M_2 muskarininių receptorių agonistas karcholis (0,01 μM) šią srovę sumažino iki 42 ± 15 proc. palyginus su izoprenalinu stimuliuotos I_{CaL} dydžiu. 2-AP27 junginys (100 μM), kuris neturėjo poveikio varlės miokardo ląstelių kontrolei, izoprenalinu nestimuliuotai I_{CaL} ($98 \pm 3,1$ proc. palyginus su kontrole, $n=3$), karcholio sumažintą izoprenalinu stimuliuotą I_{CaL} padidino iki $95 \pm 5,8$ proc. ($n=4$) ($p < 0,05$), t. y. panaikino slopinamąjį karcholio poveikį. Junginio 2-AP27 (100 μM) poveikis kontrolei I_{CaL} ir karcholio sumažintai (0,01 μM) izoprenalino stimuliuotai (0,1 μM) I_{CaL} pavaizduotas 1 pav.

Analogiški eksperimentai atlikti, tiriant 2-AP27 junginio įtaką varlės miokardo ląstelių izoprenalinu stimuliuotai I_{CaL} , ją slopinant per kitus su G_i susijusius receptorių – adenosino A_1 receptorių. 2 paveiksle parodytas eksperimento metu užregistruotas I_{CaL} kitimas, veikiant izoprenaliniui (0,1 μM), adozinui (1 μM) ir 2-AP27 (100 μM) junginiui. Šioje eksperimentų serijoje izoprenalinas (0,1 μM) padidino I_{CaL} iki 638 ± 168 proc., o adozinas (1 μM) šią srovę sumažino iki 56 ± 10 proc. ($n=3$) ($p < 0,05$) palyginus su izoprenalinu stimuliuotos I_{CaL} dydžiu. Veikiant 2-AP27 (100 μM) junginiui, adenosino sumažinta I_{CaL} išliko beveik nepakitusi ir buvo $51 \pm 7,9$ proc. ($n=3$) ($p < 0,05$) palyginus su izoprenalinu stimuliuota I_{CaL} .

Taigi, eksperimentiniai tyrimai parodė, kad karcholis

ir adozinas, sąveikaudami su skirtingais membranos receptoriais (muskarino M_2 ir adenosino A_1), mažina izoprenalinu stimuliuotą varlės miokardo ląstelių I_{CaL} . Tačiau 2-AP27 junginio poveikis šių receptorių agonistų sumažintai varlės miokardo ląstelių izoprenalinu stimuliuotai L-tipo Ca^{2+} srovei yra skirtingas – muskarino M_2 receptorių agonisto karcholio slopinamąjį poveikį 2-AP27 junginys panaikino, tačiau neturėjo įtakos adenosino A_1 receptorių agonisto adenosino sukeltam I_{CaL} sumažėjimui.

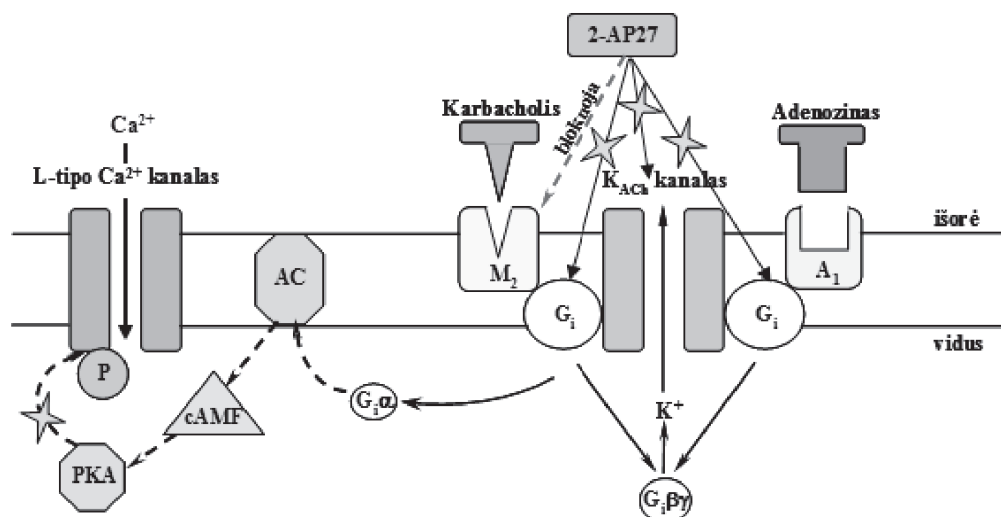
Rezultatų aptarimas

Jonų srovių registravimo fiksuotos įtampos (angl. *patch-clamp*) metodu ištirtas 2-aminopiridino naujo sulfonilkarbamidinio darinio 2-AP27, pasižyminčio veiksmingu anticholinerginiu poveikiu jūrų kiaulytės miokardo veikimo potencialų trukmei, susitraukimo jėgai ir sinusiniam širdies ritmui (10), poveikis varlės miokardo ląstelių izoprenalinu aktyvintai L-tipo Ca^{2+} srovei. Šie tyrimai atlikti siekiant nustatyti šio junginio anticholinerginio poveikio mechanizmą, t. y. ar 2-AP27 junginys tiesiogiai blokuoja muskarino M_2 receptorių, ar blokuoja K_{Ach} kanalus, ar slopina G_i baltymų aktyvumą. Šio sulfonilkarbamidinio junginio poveikis miokardo ląstelių izoprenalinu stimuliuotai I_{CaL} buvo tirtas karcholiu aktyvintų muskarino M_2 ir adozinu aktyvintų adenosino A_1 receptorių sąlygomis. Nors karcholis ir adozinas aktyvina skirtingus ląstelės membranos receptorių, tačiau jų poveikis pasireiškia per suaktyvėjusį G_i baltymą, kurio $\text{G}_i\beta\gamma$ dimeras jungiasi prie K_{Ach} kanalų ir juos aktyvina, o $\text{G}_i\alpha$ subvienetas slopina adenilciklazės aktyvumą, cAMF susidarymą, L-tipo Ca^{2+} kanalų fosforilinimą ir Ca^{2+} jonų srovę per šiuos kanalus (1, 2, 13, 14).

Sulfonilkarbamidinis 2-aminopiridino darinys 2-AP27 (2-aminopiridino darinys su 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentu vietoje amino grupės ir piridino azotu, kvaternizuotu 4-nitrobenzilo bromidu) panaikino karcholio sukeltą izoprenalinu aktyvintos I_{CaL} sumažėjimą, tačiau neturėjo įtakos adozinu sumažintai I_{CaL} . Remiantis šiais duomenimis, galima teigti, kad junginys 2-AP27 blokuoja miokardo ląstelių muskarino M_2 receptorių, todėl neaktyvinami kokliušo toksinui jautrūs G_i baltymai ir nuo jų poveikio priklausoma izoprenalinu stimuliuota miokardo ląstelių L-tipo Ca^{2+} srovė nesumažėja (junginio 2-AP27 poveikio mechanizmas parodytas 3 pav.)

Išvados

1. Muskarino M_2 receptorių agonistas karcholis ir adenosino receptorių agonistas adozinas suma-



3 pav. Karbacholio, adenozino ir sulfonilkarbamidinio 2-aminopiridino darinio 2-AP27 veikimo mechanizmo miokardo ląstelėse schema

Karbacholis – M_2 receptorių agonistas, arba adenozinas – A_1 receptorių agonistas aktyvuoja miokardo ląstelių G_i baltymus. Šių baltymų $G_{i\beta}$ subvienetai aktyvuoja K_{ACh} kanalus ir didina K^+ jonų srovę (I_{KACh}), o $G_{i\alpha}$ subvienetai slopina adenilatciklazės (AC) aktyvumą, cAMP susidarymą, baltymų kinazės A (PKA) aktyvumą, L-tipo kanalų fosforilinimą ir Ca^{2+} jonų srovę (I_{CaL}). 2-AP27 junginys, blokuodamas muskarino M_2 receptorių, panaikina slopinamąjį karbacholio poveikį izoprenalinu stimuliuotai I_{CaL} . A_1 receptorių agonisto adenozino sumažintai I_{CaL} junginys 2-AP27 įtakos neturėjo.

M_2 – muskarino receptorių, A_1 – adenozino receptorių (modifikuota remiantis (5, 8, 13)).

žino varlės miokardo ląstelių L-tipo Ca^{2+} srovę.

2. 2-aminopiridino darinys 2-[(4-metilfenil)sulfonilkarbamido]-1-(4-nitrobenzil)piridino bromidas (2-AP27) panaikina slopinamąjį karbacholio poveikį

miokardo ląstelių L-tipo Ca^{2+} srovei, tačiau neturėjo įtakos adenozino sumažintai L-tipo Ca^{2+} srovei. Tai rodo, kad 2-AP27 junginys tiesiogiai blokuoja miokardo ląstelių muskarino M_2 receptorių.

I_{KACh} inhibitor 2-[(4-methylphenyl)sulfonylcarbamido]-1-(4-nitrobenzyl)pyridinium bromide (2-AP27) is a muscarinic M_2 receptor antagonist

Vytenis Arvydas Skeberdis, Vida Gendvilienė, Danguolė Zablockaitė,
Irma Martišienė, Antanas Stankevičius

Institute of Cardiology, Kaunas University of Medicine, Lithuania

Key words: myocardial cells; carbachol; adenosine; sulfonylcarbamide derivative of 2-aminopyridine; 2-AP27; L-type Ca^{2+} current.

Summary. Aminopyridines are known to inhibit acetylcholine-activated K^+ current (I_{KACh}) in cardiac myocytes. The aim of this study was to examine the effect of 2-aminopyridine sulfonylcarbamide derivative 2-AP27 on isoprenaline-stimulated L-type Ca^{2+} current (I_{CaL}) and to identify whether 2-AP27 acts via blocking of muscarinic M_2 -receptors in frog cardiomyocytes.

The whole-cell configuration of the patch-clamp technique was used to record I_{CaL} in enzymatically isolated cardiac myocytes. Isoprenaline (0.1 μM), an agonist of β_1 - β_2 -adrenoreceptors, stimulated the I_{CaL} up to $475 \pm 61\%$ ($n=4$) ($P<0.05$) vs. control. Then, in the first series of experiments, carbachol (0.01 μM), an agonist of M_2 muscarinic receptors, reduced the stimulatory effect of isoprenaline to $42 \pm 15\%$ vs. isoprenaline alone. 2-AP27 (100 μM) alone completely abolished the inhibitory effect of carbachol on isoprenaline-stimulated I_{CaL} , which recovered to $95 \pm 5.8\%$ of the effect of isoprenaline. In the second series of experiments, adenosine

(1 μ M), an agonist of A_1 -adenosine receptors, reduced the stimulatory effect of isoprenaline on I_{CaL} to $56 \pm 10\%$ ($n=3$) ($P<0.05$). Then 2-AP27 (100 μ M) applied in the presence of adenosine, had no effect on I_{CaL} , which remained at $51 \pm 7.9\%$ ($n=3$) ($P<0.05$) of the effect of isoprenaline. These results suggest that 2-AP27, a new derivative of 2-AP, containing 4-toluolsulfonylcarbamide instead of amino group and quaternized nitrogen by 4-nitrobenzylbromide in pyridine ring, is acting as an antagonist of muscarinic M_2 receptors in frog ventricular myocytes.

Correspondence to V. Gendvilienė, Institute of Cardiology, Kaunas University of Medicine, Sukilėlių 17, 50161 Kaunas. E-mail: membiof@kmu.lt

Literatūra

1. Harvey RD, Belevych AE. Muscarinic regulation of cardiac ion channels. *Br J Pharmacol* 2003;139:1074-84.
2. Kovoor P, Wickman K, Maguire CT, Pu W, Germann J, Berul ChI, et al. Evaluation of the role of K_{Ach} in atrial fibrillation using a mouse knockout model. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(8):2136-43.
3. Liu L, Nattel S. Differing sympathetic and vagal effects on atrial fibrillation in dogs: role of refractoriness heterogeneity. *Am J Physiol* 1997;273:H805-16.
4. Iost N, Virag L, Varro A, Papp JG. Comparison of the effect of class IA antiarrhythmic drugs on transmembrane potassium currents in rabbit ventricular myocytes. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2003;8(1):31-41.
5. Mori K, Hara Y, Saito T, Masuda Y, Nakaya H. Anticholinergic effects of class III antiarrhythmic drugs in guinea pig atrial cells. Different molecular mechanisms. *Circulation* 1995;91(11):2834-43.
6. Brooks RR, Drexler AP, Maynard AE, Al-Khalidi H, Kostreva DR. Proarrhythmia of azimilide and other class III antiarrhythmic agents in the adrenergically stimulated rabbit. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;223(2):183-9.
7. Pogwizd SM, Bers DM. Cellular basis of triggered arrhythmias in heart failure. *Trends Cardiovasc Med* 2004;14:61-6.
8. Tamargo J, Caballero R, Gomez R, Valenzuela C, Delpon E. Pharmacology of cardiac potassium channels. *Cardiovasc Res* 2004;62:9-33.
9. Johnson NC, Morgan MW. An unusual case of 4-aminopyridine toxicity. *J Emerg Med* 2006;30(2):175-7.
10. Gendvilienė V, Zablockaitė D, Martišienė I, Gurskaitė H, Stankevičius A. Anticholinergic effect of 2-aminopyridine and its sulfonylcarbamide derivatives on electromechanical activity in guinea pig atrium. *Medicina (Kaunas)* 2007;43(10):808-15.
11. Ito H, Hosoya Y, Inanobe A, Tomoike H, Endoh M. Acetylcholine and adenosine activate the G protein-gated muscarinic K^+ channel in ferret ventricular myocytes. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1995;351:610-7.
12. Kurachi Y, Tung R, Ito H, Nakajima T. G protein activation of cardiac muscarinic potassium channel. *Prog Neurobiol* 1992;39:226-46.
13. Lomax AE, Rose RA, Wayne RG. Electrophysiological evidence for a gradient of G protein-gated K^+ current in adult mouse atrial. *Br J Pharmacol* 2003;140:576-84.
14. Tamargo J, Caballero R, Gomez R, Valenzuela C, Delpon E. Pharmacology of cardiac potassium channels. *Cardiovasc Res* 2004;62:9-33.

Straipsnis gautas 2008 07 01, priimtas 2009 07 03

Received 1 July 2008, accepted 3 July 2009