

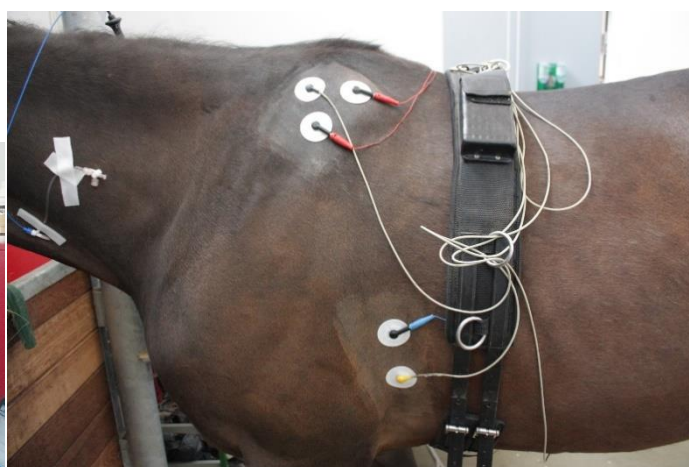
KØBENHAVNS UNIVERSITET

DET SUNDHEDSVIDENSKABELIGE FAKULTET

INSTITUT FOR PRODUKTIONSDYR OG HESTE



QT INTERVAL I HESTE BEHANDLET FOR ATRIEFLIMMER MED DOFETILID OG RANOLAZIN



Afleveret: 13. juni 2014

Speciale rapport

Kathrine Larsen

FTV685

Vejleder: Rikke Buhl

Medvejleder: Helena Carstensen

Forord

Følgende kandidat rapport ”QT interval hos heste behandlet for atrieflimmer med Dofetilid og Ranolazin” er baseret på et eksperimentelt forsøg med heste i perioden januar til maj 2014. Rapporten bliver afleveret til det sundhedsvidenskabelige fakultet, institut for produktionsdyr og heste under København universitet som afsluttende del af uddannelsen i veterinærmedicin. Rapporten svarer til 30 ECTS point. Rapporten er henvendt til folk med interesse i equine kardiologi.

Tak til alle der har hjulpet og støttet i forbindelse med tilblivelsen af denne kandidat rapport:

Vejleder Professor, Ph.D., DVM Rikke Buhl for gennemlæsning og store hjælp med rettelser i forbindelse med udarbejdelsen af rapporten.

Medvejleder Ph.D. studerende DVM Helena Carstensen for samarbejdet under forsøgene, samt indspark, sparing og entusiasme under rapportarbejdet.

Ph.D. studerende, DVM Philip J. Pedersen for introduktion til QT målinger i hest. Hjælp med dataanalyser og statistik i forbindelse med udarbejdelsen af resultater i forbindelse med rapporten.

DVM Trolle Tanstrup for korrektur og gennemlæsning af rapporten.

Dato: 13. juni 2014

Kathrine Larsen

Resumé

Dette speciale har til hensigt at undersøge Dofetilid, Ranolazin og en kombinationsbehandling med de to lægemidlers antiarytmiske potentiale i equine kardiologi ud fra målinger af QT intervallets længde på EKGer.

Atrieflimmer hos hest har begrænsede behandlingsmuligheder, som er moderat effektive og med betydelige bivirkninger, herunder QT interval forlængelser. Forlængelser af QT intervallet er blevet forbundet med ventrikulære arytmier både veterinært og humant. Der er fokus på at stoffer som Ranolazin, med højere atrie selektiv blokade af ionkanaler, kan mindske de ventrikulære arytmier og QT interval forlængelsen. Kombinationen af klasse III antiarytmiske stoffer og Ranolazin kan konvertere atrieflimmer ved lavere dosis end givet separat og sænke QT interval forlængelsen. Det er relevant at undersøge, om det også gælder for klasse III stoffet Dofetilid i kombination med Ranolazin.

Forsøget bestod af to dele. Første del var et kontrol forsøg, da Ranolazin og Dofetilid aldrig var blevet administreret til hest. Der blev udført fire procedurer bestående af indgift af to doser med Dofetilid, Ranolazin, en kombinationsbehandling med begge stoffer og en kontrol med saltvand. Anden del var et atrieflimmer behandlingsforsøg, hvor atrieflimmer blev induceret via burst pacing med elektroder i hestens atrier. Hestene gennemgik som for kontrolforsøget de samme fire procedurer med indgift af fire doser stof. Under begge forsøgsdele blev der optaget EKG inden procedurerens start og 24 timer efter indgift af sidste dosis. EKGerne blev anvendt til målinger af QT intervaller før, under og efter procedurerne.

100 % af forsøgshestene i atrieflimmer behandlingsforsøget konverterede på Ranolazin og Dofetilid givet enkelvist. 83,3 % af forsøgshestene konverterede på kombinationsbehandlingen med Dofetilid og Ranolazin. Dofetilid havde en signifikant forlængende effekt på QT intervallet. Ranolazin havde en kortvarig signifikant QT forlængende effekt. Kombinationsbehandlingen med Dofetilid og Ranolazin havde en længerevarende signifikant forlængende effekt på QT intervallet. Ranolazin nedsatte ikke den QT forlængende effekt af Dofetilid signifikant i forsøget.

Kombinationsbehandlingen med Dofetilid og Ranolazin udgjorde en effektiv behandlingsstrategi for pacing induceret atrieflimmer hos hest. Der blev ikke observeret kliniske bivirkninger hos hestene, men der var udtalte QT interval forlængelser forbundet med kombinationsbehandlingen.

Abstract

This thesis intend to investigate the antiarrhythmic potential of Dofetilide, Ranolazine and the combination of the two drugs in equine cardiology from measurements of the QT interval length on the ECG.

Atrial fibrillation in horses has limited options in treatment. Drugs used are moderately effective and with significant side effects, including QT interval prolonging. Prolonging of the QT interval has been associated with ventricular arrhythmias both in veterinary and in human medicine. There tend to be a focus on drugs like Ranolazine with higher atrial selective blockade of ion channels and the capability to reduce ventricular arrhythmias and QT interval prolongations. The combination of class III antiarrhythmic drugs and Ranolazine are able to convert atrial fibrillation at lower doses than given separate and lower QT interval prolongation. It is relevant to examine whether this also applies to the class III substance Dofetilide combined with Ranolazine.

The experiment consisted of two parts. The first part was a control experiment, as Ranolazine and Dofetilide were not tested in horses before. Four procedures were preformed, proceeding with administration of two doses of Dofetilide, Ranolazine, a combination of both drugs and a control with saline. The second part was an atrial fibrillation treatment study in which atrial fibrillation induced by burst pacing electrodes in the horses' atriums. The horses went through the same four procedures as the control experiment with administration of four doses of drug. In both trials ECG were obtained before starting the procedure up to 24 hours after the last dose. The ECGs used for measuring of QT intervals before, during and after the procedures.

100 % of the horses in atrial fibrillation treatment study converted on Ranolazine and Dofetilide. 83.3% of the test horses converted on combination therapy with Dofetilide and Ranolazine. Dofetilide had a significant prolongation on the QT interval. Ranolazine had a significant short-term QT prolonging effect. The combination therapy with Dofetilide and Ranolazine had a long term significantly prolonging effect on the QT interval. Ranolazine did not reduce the QT prolonging effect of Dofetilide significantly in the trial.

The combination therapy with Dofetilide and Ranolazine constituted an effective treatment strategy for pacing-induced atrial fibrillation in horses. There was no observed clinical side effects in horses, but there were QT interval prolongations associated with combination therapy.

Indholdsfortegnelse

Forord.....	1
Resumé.....	2
Abstract	3
Indholdsfortegnelse	4
Forkortelser	6
Indledning	7
Teori.....	9
1. Elektrofysiologiske mekanismer i hestens hjerte.....	9
1.1. Aktionspotentialets funktion i hjertet	9
1.1.1. Depolarisering.....	10
1.1.2. Repolarisation	10
1.1.3. Ionkanaler og ionstrømningernes påvirkning af aktionspotentialet	11
1.1.4. Aktionspotentialets forløb og refraktære periode.....	12
2. Hjertets impulsledning.....	12
2.1. EKG.....	12
2.2. QT interval	14
2.3. QT dynamik.....	14
3. Atrieflimmer	15
3.1. Atrieflimmer udseende og udbredelse.....	15
3.2. Klassifikation af atrieflimmer.....	16
3.3. Mekanismer bag atrieflimmer	16
3.4. Behandlingsstrategier for atrieflimmer.....	19
Det eksperimentelle studie	21
4. Materiale og metode	21
4.1. Hestene	21
4.2. Overordnet studie design.....	21
4.2.1. Kontrolforsøg med Dofetilid og Ranolazin.....	21
4.2.1.1. Præ-procedure	21
4.2.1.2. Procedure	22
4.2.1.3. Post-procedure	23
4.2.2. Atrieflimmer behandlingsforsøg med Dofetilid og Ranolazin.....	23

4.2.2.1.	Præ-procedure	23
4.2.2.2.	Procedure før indgift af stoffer.....	25
4.2.2.3.	Procedure under og efter stofindgift	26
4.3.	EKG analyser	27
4.4.	Statistiske metodebeskrivelse og data analysemetode.....	29
5.	Resultater	31
5.1.	24 timers EKG	31
5.2.	Kontrollforsøg	32
5.3.	Atrieflimmer behandlingsforsøg	35
5.3.1.	Konverteringstid.....	35
5.3.2.	QT interval	36
6.	Diskussion	40
6.1.	Metode og data analyser	40
6.2.	Dofetilid	43
6.3.	Ranolazin.....	44
6.4.	Kombinationsbehandling.....	45
7.	Konklusion.....	48
8.	Perspektivering	49
9.	References	52
10.	Bilag	57
	Tabel 1. QTc længde for de 9 heste, fra 24 timer EKGerne	57
	Tabel 2. Data for fælles lineær regression på de 9 hestes 24 timers EKGer	58
	Tabel 3. Data for variationen imellem hestens 24 timers EKG.....	58
	Tabel 4. ANOVA analyse af Dofetilid for kontrollforsøg	59
	Tabel 5. ANOVA analyse af Ranolazin for kontrollforsøg.....	59
	Tabel 6. ANOVA analyse af kombinationsbehandling for kontrollforsøg	60
	Tabel 7. ANOVA analyse af saltvandskontrol for kontrollforsøg	60
	Tabel 8. Atrieflimmer varighed for AF behandlingsforsøg	61
	Tabel 9. Atrieflimmer varighed for de forskellige behandlingsstrategier	61
	Tabel 10. ANOVA analyse af Dofetilid for AF behandlingsforsøg.....	62
	Tabel 11. ANOVA analyse af Ranolazin for AF behandlingsforsøg.....	62
	Tabel 12. ANOVA analyse af kombinationsbehandling for AF behandlingsforsøg.....	63
	Tabel 13. ANOVA analyse af kontrol for AF behandlingsforsøg	63

Forkortelser

AV knuden: Atrioventrikulær knuden

SA knuden: Sinoatrial knuden

EKG: Elektrokardiogram

AF: Atrieflimmer

K^+ : Kalium

Na^+ : Natrium

Ca^{2+} : Calcium

Ca_v : Spændingsafhængige calciumkanal

ERG1 kalium kanal: Ether a go-go related gene 1 kalium kanal

I_{Ca} : Calcium strømmen

I_K : Udad strømmende K^+

I_{K1} : Ensrettet indad strømmende kalium

I_{Kr} : Hurtigt ensrettet forsinket udad strømmende kalium

I_{Ks} : Langsomt ensrettet forsinket udad strømmende kalium

I_{Kur} : Ultra hurtig udad strømmende kalium

I_{Na} : Natriumstrømmen

$I_{to,f}$: Hurtigt forbigående udad strømmende kalium

K_{ir} : Ensrettet indad strømmende kalium kanal

K_{Kr} : Hurtig ensrettet forsinket kalium kanal

K_v : Spændingsafhængige kalium kanal

Na_v : Spændingsafhængige natrium kanal

Indledning

Der er to former for forlængelse af QT intervallet: En arvelig form og en lægemiddelinduceret form (Tfelt-Hansen *et al.*, 2010). Hos hest ses kun den lægemiddelinducerede form (Finley *et al.*, 2003).

QT interval har klinisk relevans både humant og veterinært i forbindelse med behandling af atrieflimmer (AF) (Al-Khatib *et al.*, 2003). QT intervallets forlængelse på EKG'et er blevet associeret med pludselig død og torsades de pointes både humant og veterinært (Finley *et al.*, 2003, Reef *et al.*, 1995). De medicinske antiarytmika, der bruges til behandling af AF, ændrer hjertes elektriske egenskaber (Workman *et al.*, 2011). De antiarytmiske lægemidler har effekt på atriernes elektriske aktivitet og påvirker ventriklernes elektrofysiologi proarytmisk.

Lægemidlerne kan give ventrikulær takykardi, ved at forlænge ikke kun atriernes repolariseringsfase, men også ventriklernes, derved forlænges QT intervallet (Nattel, 2002).

Quinidin er det mest brugte antiarytmiske lægemiddel til behandling af AF hos hest (Deem & Fregin, 1982, Bertone & Wingfield, 1987, Reef *et al.*, 1988, Muir *et al.*, 1990, Reef *et al.*, 1995). Quinidin har en række bivirkninger både i og uden for hjertet, samt kan forårsage pludselig død og torsades de pointes humant og hos hest (Morris & Fregin, 1982, Reef *et al.*, 1995). Der undersøges derfor alternative farmaka til brug mod AF både humant og hos hest, der er effektive og har færre bivirkninger.

Dofetilid er et nyere antiarytmisk lægemiddel, der bruges til at behandle AF humant. Dofetilid har aldrig været administreret til hest. Dofetilid giver en dosisafhængig forlængelse af QT intervallet. Det påvirker den effektive refraktære periode i atrieerne og ventriklerne og kan virke proarytmisk i ventriklerne (Patel *et al.*, 2011). Humant er Dofetilid mest effektiv over for patienter med persisterende AF (Banchs *et al.*, 2008).

Ranolazin er et nyt antiarytmisk lægemiddel, der kun er anvendt humant. Ranolazin giver en dosisafhængig effekt på forlængelsen af aktionspotentialet og en moderat forlængelse af QT intervallet (Antzelevitch *et al.*, 2004). Ranolazine er hovedsagligt et atrie selektiv antiarytmisk lægemiddel og reducerer risikoen for ventrikel takykardi (Antzelevitch & Burashnikov, 2009). Ranolazin sænker ledningshastigheden og forlænger atriernes effektive refraktære periode to gange mere end i ventriklen (Kumar *et al.*, 2009). Ranolazin har en positiv effekt på bevaring af sinusrytmen hos mennesker med tilbagevendende AF (Murdock *et al.*, 2008, Vaishnav *et al.*, 2014).

Der eksisterer ikke en human eller equine medicinsk behandlingsstrategi for AF, der både er effektiv og har få bivirkninger. Der er lavet forsøg med Ranolazin og andre antiarytmiske lægemidler i kombination og derved opnået en bedre beskyttelse mod AF i kaniner (Frommeyer *et al.*, 2013). Der findes ingen forsøg hvor Dofetilid og Ranolazin er blevet brugt i kombination. De to lægemidlers påvirkning af QT intervallet samt hestes tolerance for stofferne er ukendt.

Formålet med projektet er at undersøge, om der findes en mere effektivt behandlingsstrategi til behandling af AF med færre bivirkninger end de traditionelle behandlingsstrategier. Der introduceres lægemidler, hvis virkning er ukendt i heste, og studiet opdeles derfor i to dele. Formålet med første del er at undersøge, om heste tåler behandling med henholdsvis Dofetilid og Ranolazin samt en kombinationsbehandling med de to lægemidler. Derefter er formålet at undersøge, om heste med induceret AF konverterer til sinusrytme efter behandling med Dofetilid, Ranolazin og kombinationsbehandlingen.

Forsøget vil give mulighed for at vise, hvilken virkning Dofetilid, Ranolazin og kombinationsbehandlingen har på QT intervallet i hest. Det kan vurderes, om effekten er i overensstemmelse med den observerede effekt humant. Derved kan det underbygge brugen af heste som modeldyr for mennesker i den fremtidige forskning inden for behandlingsstrategier for AF.

På baggrund af overstående opstilles følgende hypoteser for studiet:

- Dofetilid virker signifikant QT interval forlængende i hest.
- Ranolazin giver en ikke signifikant forlængelse af QT intervallet hos hest.
- Kombinationsbehandlingen med Ranolazin og Dofetilid giver en ikke signifikant forlængelse af QT komplekset.
- Kombinationsbehandlingen giver en signifikant kortere forlængelse af QT intervallet end Dofetilid administreret alene.
- Behandling med Dofetilid, Ranolazin og kombinationsbehandlingen forkorter den tid hestene er i AF i forhold til kontrol med saltvand.

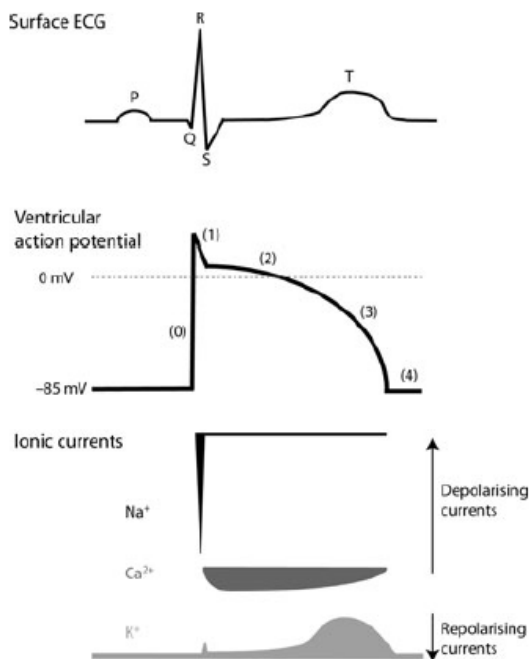
Teori

Medicinsk behandling af atrieflimmer (AF) introducerer et elektrofysiologisk dilemma. Behandlingens formål er, at opnå en antiarytmisk effekt i atrierne så sinusrytme kan reetableres. De fleste behandlinger påvirker samtidig ionkanalerne i ventriklerne, så der udvikles en forlænget repolariseringsfase, hvilket forlænger QT intervallet. Forlænget QT interval kan medføre ventrikulære arytmier, og en medicinsk behandling kan virke proarytmisk i ventriklerne. Der vil i teorien blive gennemgået ionstrømningernes påvirkning af hjertets aktionspotentiale og hjertets impulsledning samt påvirkningen af hjertets overflade EKG med fokus på QT intervallet. Herudover gennemgås baggrunden for AF hos hest og udvalgte behandlingsstrategier for AF, hvilket er baggrund for forståelse af forsøgssopstillingen og resultaterne for det eksperimentelle forsøg.

1. Elektrofysiologiske mekanismer i hestens hjerte

1.1. Aktionspotentialets funktion i hjertet

Hestens hjerte fungerer som en pumpemekanisme, styret af elektriske impulser. De elektriske impulser starter i pacemakerceller i sinoatrial knuden (SA knuden), strækker sig gennem atrierne ned i atrioventrikulær knuden (AV knuden) og ned i ventriklerne (Nerbonne & Kass, 2005). Myocytter står for hjertets sammentrækning. Myocyternes sammentrækning genereres via et aktionspotentiale henover cellemembranen (Marr & Bowen, 2010). Aktionspotentialet dannes via ionstrømningerne hen over cellemembranen, hvilket medfører en depolarisering pga. indadrettet strøm af Na^+ (I_{Na}) og Ca^{2+} (I_{Ca}) og en repolarisering pga. udadrettet strøm af K^+ (Nerbonne & Kass, 2005). Hjertes myocytter vil i hvilefasen have et højt indhold af K^+ og et lavt indhold af Na^+ i cellen. Det giver mulighed for en depolarisering og en repolarisering (Reed *et al.*, 2010). Ionfordelingen skaber en negativ elektrisk ladning inde i cellen i forhold til den extracellulære væske. Spændingsforskellen over cellemembranen repræsenterer transmembranpotentialen og er i hvilefasen mellem -80 og -90 mV. Aktionspotentialet genereres af en vandring af ioner over cellemembranen og en ændring i transmembranpotentialen fra -90 mV til +20 mV (depolarisering) og tilbage fra +20 mV til -90 mV (repolarisering) (fig. 1) (Marr & Bowen, 2010). Aktionspotentialet kan inddeles i faser fra 0-4 (Reed *et al.*, 2010) (fig. 1).



Figur 1. Sammenhængen mellem EKG, aktionspotentiale og ion strømninger.

Figuren viser hvordan ion strømningen i cellen skabes: Na^+ øges (0) depolarisering. K^+ falder kort (1). Ca^{2+} øges og udligner faldet i K^+ (2). Forskellige K^+ kanaler giver fald i K^+ (3) repolariseringsfasen. EKG afspejler muskelsammentrækningerne pga. enten depolarisering eller repolarisering. P takken viser atriernes depolarisering, mens QRS komplekset viser den ventrikulære depolarisering og T takken viser ventriklernes repolarisering. Modificeret fra Tfelt-Hansen *et al.* (2010).

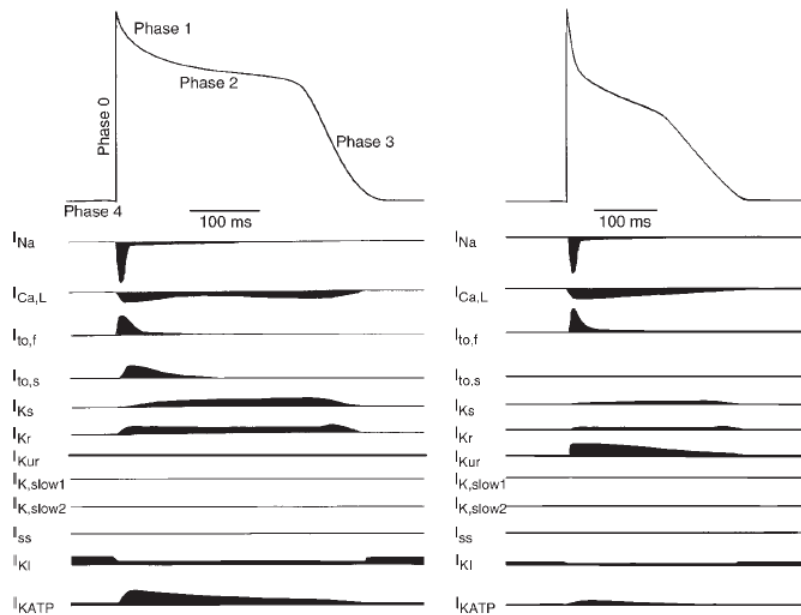
1.1.1. Depolarisering

Atriernes og ventriklernes fælles elektriske punkt er AV knuden. AV knuden sænker ledningshastigheden på den elektriske impuls, så ventriklernes kan fyldes inden den elektriske impuls når ventriklernes (Jespersen, 2011). I ventriklernes spredes den elektriske impuls via det Hiske bundt og Purkinie fibre, hvilket fører til en hurtig depolarisering af ventriklen (Jespersen, 2011). Depolarisering sker i fase 0 (fig. 2), via en åbning af I_{Na} , hvorved den transmembranøse ladning af myocyterne går fra -90 mV til +20 mV (Marr & Bowen, 2010, Reed *et al.*, 2010). De spændingsafhængige Na^+ kanaler (Na_v) aktiveres ved en transmembranøs ladning på -55 mV (fig. 1) (Nerbonne & Kass, 2005). I SA knuden og AV knuden er hvilepotentialer lavere omkring -60 mV. Depolariseringen er styret af langsommere Ca^{2+} kanaler. (Marr & Bowen, 2010).

1.1.2. Repolarisation

Repolarisering er faserne 1-3 (fig. 2). Under fase 1 sker en inaktivering af I_{Na} og en kort aktivering af de udadrettet strømmende K^+ kanaler (I_{K}). Samtidig sker en langsommere

åbning af Ca^{2+} kanalerne (Jespersen, 2011). Åbningen af de langsomme Ca^{2+} kanaler fra fase 1 giver et plateau i fase 2 (Bers, 2002). Udvekslingen af I_{Ca} og I_{K} udligner hinanden og skaber plateauet (Nattel, 2002). Aktivering af K^{+} kanaler, samtidig med at Ca^{2+} kanalerne inaktiveres giver stor I_{K} i fase 3. Fase 4 er hvilemembranpotential og er hovedsagligt styret af K^{+} kanaler (Grunnet, 2010).



Figur 2. Aktionspotentialer i et humant hjerte med underliggende illustration af hvilke ionstrømme (calcium, natrium, kalium) der er afgørende i aktionspotentialiets forskellige faser. Aktionspotentialet til venstre er målt fra venstre ventrikel. Aktionspotentialet til højre er målt fra højre atrie. Modificeret fra Nerbonne & Kass. (2005).

1.1.3. Ionkanaler og ionstrømningernes påvirkning af aktionspotentialiet

Hvilemembranpotential (fase 4) efterfølges af depolarisering (fase 0) styret af Na_v (Grunnet, 2010). Inaktivering af Na_v og aktivering af de hurtigt forbigående udad strømmende kalium ($I_{\text{to},f}$) og den ultra hurtige K^{+} strøm udad (I_{Kur}) i atrierne er starten på repolariseringen (fase 1). Under plateau (fase 2) aktiveres spændingsafhængige Ca^{2+} kanaler (Ca_v) og der sker en I_{Ca} gennem Ca_v (Nerbonne & Kass, 2005, Jespersen, 2011). Under plateau fasen begynder I_{K} at dominere, mens Ca_v inaktiveres og medfører repolariseringen (fase 3). En række spændingsafhængige K^{+} kanaler (K_v) og ikke spændingsafhængige ensrettede indad strømmende kalium kanaler (K_{ir}), styrer repolariseringen af myocyterne (Nerbonne & Kass, 2005). Hurtig ensrettet forsinket kalium kanal (K_{Kr}), langsomt ensrettet forsinket udad

strømmende kalium (I_{Ks}) og ensrettet indad strømmende kalium (I_{Kl}) er med til at give fase 3. I_{Kr} bliver ledt gennem en K_v , kaldet ERG1 kanal. ERG1 er en unik K^+ kanal, der er pivotal i hjertes repolarisering (Jespersen, 2011). Under depolarisering åbnes ERG1, men deaktiveres hurtigt og leder en mindre strøm af K^+ gennem depolariseringsfasen og plateaufasen. Ved repolarisering vil Ca_v og I_{Ks} aktivering genaktivere ERG1 igen. ERG1 vender langsomt tilbage til den deaktiverede status og en større strøm K^+ vil genetablere hvilemembranpotentialet (Jespersen, 2011). I_{Kl} , som løber gennem K_{ir} , er hovedaktøren i at få genetableret hvilemembranpotentialet (Dhamoon & Jalife, 2005) (fig. 2).

1.1.4. Aktionspotentialets forløb og refraktære periode

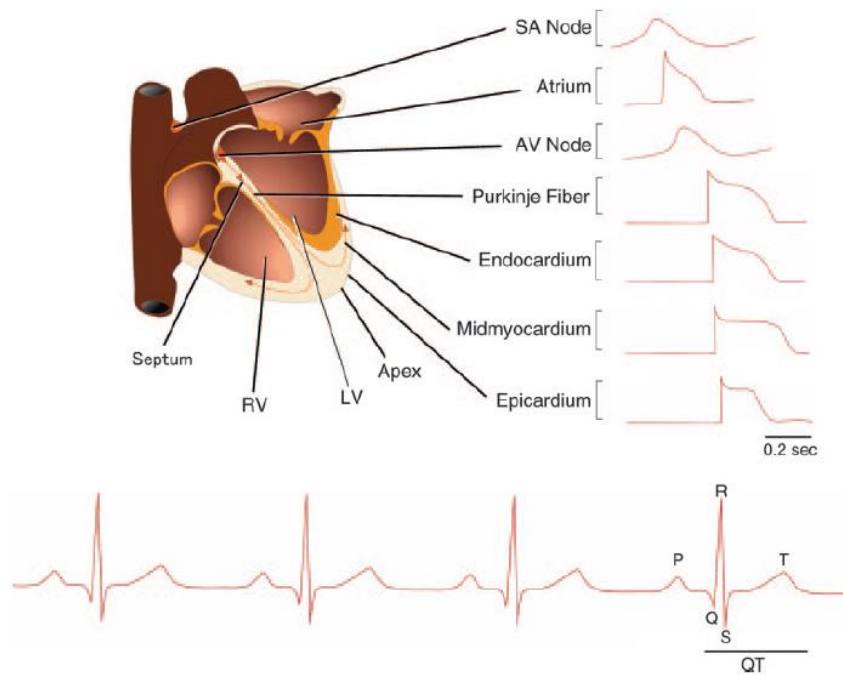
Under Na_v inaktivering (fase 1) starter cellen ikke et nyt aktionspotentiale. Fasen betegnes den effektive refraktære periode (Ravens, 2010). Når cellen repolariseres, vil den igen være modtagelig for stimuli. Den periode, hvor cellen kun kan stimuleres af et stimuli større end normalt, kaldes den relative refraktære periode (Marr & Bowen, 2010). Inaktiveringen af Na_v holder gennem hele repolariseringsfasen indtil hvilemembranpotentialet er genoprettet. Refraktær perioden svarer til længden på aktionspotentialet (Cunningham & Klein, 2007). Na_v bliver hurtigere klar til genaktivering ved højere negative ladninger (Ravens, 2010). Derfor vil flere Na_v i atrierne blive inaktiveret ved et givent aktionspotentiale. Atrierne har en mere positiv ladning og en lavere frigivelse fra inaktivering af Na^+ end i ventriklerne (Tfelt-Hansen *et al.*, 2010).

2. Hjertets impulsledning

2.1. EKG

Hjertets EKG afspejler den potentielle forskel mellem positive og negative elektroder, der bliver placeret uden på kroppen. De steder elektroderne placeres repræsenterer elektriske ladninger i hjertet (Marr & Bowen, 2010).

Udslagene på EKG'et kommer fra depolariseringen og repolariseringen af atrierne og ventriklerne. Atriernes sammentrækning giver P takken på overflade EKG'et. PR segmentet er impulsens forløb gennem AV knuden. Depolarisering af ventriklen ses som QRS komplekset og repolariseringen som T takken på overflade EKG'et. (fig. 4). QT intervallet måles fra starten af QRS komplekset og frem til slutningen af T takken og afspejler ventriklernes depolarisering og repolarisering (Al-Khatib *et al.*, 2003, Verheyen *et al.*, 2010) (fig. 3).



Figur 3. Elektrisk aktivitet i hjertet.

Skematisk fremstilling af det humane hjerte. Aktionspotentialets morfologi målt i forskellige områder af hjertet (øverst). Det bliver sammenholdt med de elektriske impulser registreret på dyrets overflade EKG (nederst).

Modificeret fra Nerbonne & Kass. (2005).



Figur 4. Hest i sinusrytme

Hesten er her i sinusrytme, og man kan se P tak efterfulgt af QRS kompleks og T takken. Det øverste blå EKG er P tak afledningen, det nederste blå base-apex afledningen. LabChart fra hest 7 i forsøg.

2.2. QT interval

QT intervallet repræsenterer ventriklens depolarisering og repolarisering. På EKG'et ses en forlængelse mellem Q og T takken (Tfelt-Hansen *et al.*, 2010). Forlængelse af QT intervallet skyldes en malfunktion af ionkanalerne, som skaber et overskud af positivt ladede ioner. Overskuddet af intracellulære positive ioner forsinket den ventrikulære repolarisering og giver en tidlig efter-depolarisering. Der sker en forsinkelse af inaktivering af Ca_v , der forlænger I_{Ca} og den tidlige efter-depolarisering yderligere (Viskin, 1999). Det er aktionspotentialets repolariseringsfase, der skaber en forlængelse af QT intervallet hovedsagligt fra fejl i I_K (Finley *et al.*, 2003). Når QT intervallet forlænges, øges risikoen for, at næste herteimpuls kan forekomme i den relative refraktære periode. Den relative refraktære periode ses fra toppen af T takken til nederste del af T takken. Hvis der kommer et impuls i den relative refraktære periode, kan hjerterytmen udvikles til en takyarytmi og ventrikelflimmer (Hutton, 2008). Der er to former for forlænget QT syndrom, en erhvervet og en arvelig (Tfelt-Hansen *et al.*, 2010). Den arvelige form for forlænget QT syndrom skyldes mutationer i 12-15 gener. Den er relativ sjælden i mennesker og er ikke beskrevet i hest (Finley *et al.*, 2003, Tfelt-Hansen *et al.*, 2010). Den erhvervede form for forlænget QT syndrom skyldes en lægemiddelinduceret blokade af K^+ strømningerne i repolariseringsfasen. Det er specielt klasse I og klasse III antiarytmiske lægemidler, som kan inducere forlænget QT interval og ventrikulære arytmier. Proarytmi er den mest almindelige effekt af brugen af klasse IA (Quinidin) og klasse III (Dofetilid). De klasser af lægemidler går ind og forlænger aktionspotentialet ved blokering af Na^+ og K^+ strømningerne (Finley *et al.*, 2003). Den lægemiddelinducerede blokade af ERG kanalerne og dermed inhiberingen af I_{Kr} skaber forlænget QT syndrom. Forlængelsen af QT intervallet øger risikoen for ventrikulær takykardi og torsades de pointes (Yang *et al.*, 2001).

2.3. QT dynamik

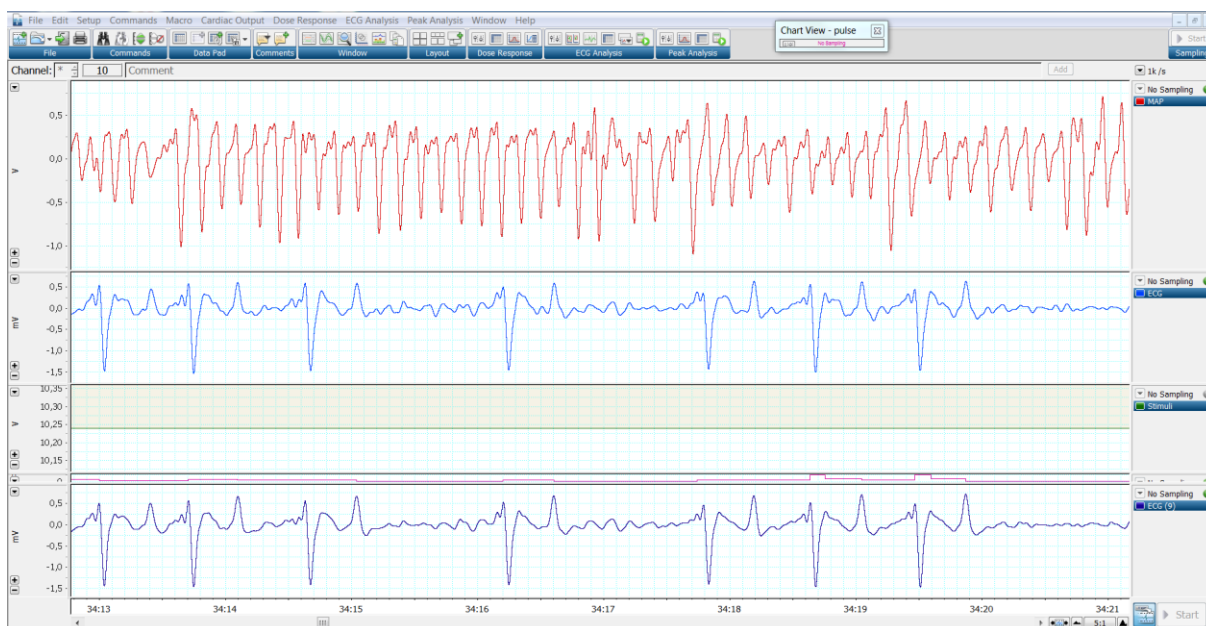
QT intervallet er afhængig af puls. Når pulsen stiger (fald i RR) vil QT intervallet blive kortere og omvendt ved pulsfald (Pedersen *et al.*, 2013). Ændringer i QT intervallet kan skyldes en lægemiddelinduceret effekt på repolariseringen eller en ændring af pulsen (Desai *et al.*, 2003). QT intervallet vil gradvist tilpasses til ændringer i RR intervallet, kaldet QT lag (Larroude *et al.*, 2006). QT intervallets pulsafhængighed gør det sværere at sammenligne flere QT intervaller ved forskellig puls. Inden for human medicin er der udviklet forskellige korrektionsformler til beskrivelse af QT intervallets pulsafhængighed (Malik *et al.*, 2002). QT intervallets pulsafhængighed hos hest følger en bifasisk lineær regression, der ikke ligner dem

der bruges humant (Pedersen *et al.*, 2013). Når hjertet ikke følger en normal sinus rytme, men er i AF, vil indflydelse af QT lag blive større på selve QT intervallet. En simpel korrektion for QT lag er ved at sammenligne QT intervallet med et vægtet gennemsnit af fem på hinanden følgende RR intervaller (Ehlert *et al.*, 1992). En mere pålidelig QT dynamik under AF opnås ved at inkludere flere RR intervaller i QT udregningen (Larroude *et al.*, 2006).

3. Atrieflimmer

3.1. Atrieflimmer udseende og udbredelse

Atrieflimmer skyldes asynkron kontraktilitet af atrieerne. Den asynkrone kontraktilitet af atrieerne giver en mindre fyldning af ventriklernes og en lavere slagvolumen (Blissitt, 1999). Atrieflimmer kan diagnosticeres via EKG. På EKGet ses en stor variation i RR intervallet, ingen P tak og små irregulære F takker på baseline (fig. 5).



Figur 5. Hest i naturlig atrieflimmer

EKG fra en hest i naturlig AF viser fraværet af en P tak og mange F takker. Øverst ses baseline der viser atriernes kontraktion. De 2 nederste afledninger viser base-apex afledning og P taks afledning på EKGet. Billedet er fra hest i behandling for naturlig AF i et sideløbende forsøg med AF behandlingsstrategier.

Atrieflimmer anses som en af de vigtigste kliniske relevante arytmier, der forårsager nedsat præstation i væddeløbsheste (Deem & Fregin, 1982, Holmes *et al.*, 1986, Manohar & Smetzer, 1992, Hiraga & Kubo, 1999, Ohmura *et al.*, 2003). I undersøgelser fra USA og Japan er der fundet, at prævalensen af AF blandt de undersøgte heste var mellem 0,23-0,66 %. Der er ikke fundet en signifikant forskel på prævalensen sammenholdt med køn, der er dog

påvist en højere prævalens af AF i heste ældre end 4 år (Deem & Fregin, 1982, Ohmura *et al.*, 2003). Heste der arbejder ved høj intensitet påvirkes af AF gennem en svigtende pumpefunktion i atrieerne, der påvirker den ventrikulære fyldning, slag volumen og kardiære output negativt (Deem & Fregin, 1982, Holmes *et al.*, 1986). Hos heste med AF er der fundet lav klinisk evidens på underliggende hjertelidelser (Deem & Fregin, 1982). Heste med en underliggende hjertelidelse har sværere ved at respondere på behandling og vil nemmere få residiv (Reef *et al.*, 1988).

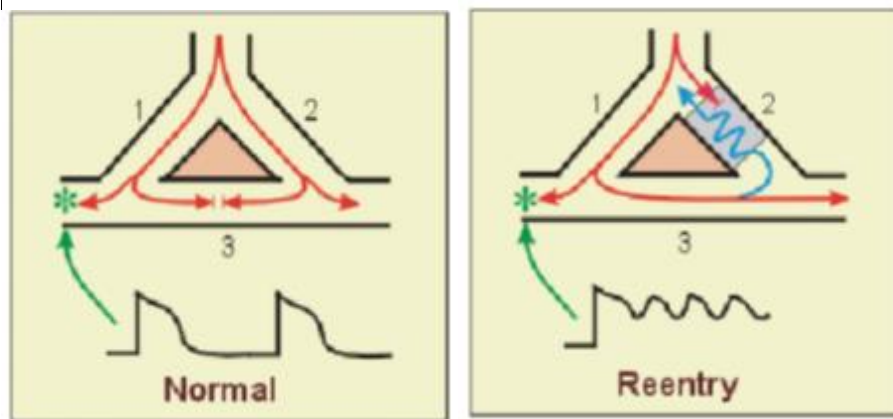
3.2. Klassifikation af atrieflimmer

Atrieflimmer klassificeres nemmest på baggrund af tilstandens længde. Paroxysmal AF er selvhelbredende og stopper oftest indenfor 24 timer, men kan vare op til 7 døgn. Persisterende AF kræver behandling for at konvertere og varer mere end 7 døgn. Permanent AF kan ikke spontant eller via behandling konverteres tilbage til normal sinusrytme (Patel *et al.*, 2011). Induceres AF gentagende gange eller går fra paroxysmal til persisterende og senere til permanent, påvirkes strukturerer i atrieerne og ændrer på myocytternes biokemiske struktur (Wijffels *et al.*, 1995, Van Wagoner & Nerbonne, 2000). De elektrofysiologiske forhold vil ændre sig, hvilket bevirker en ændring i udseende og regulering af ionkanalerne. Aktionspotentialer bliver forkortet, hvilket nedsætter ændringsmulighederne for den effektive refraktære periode. Der sker en række strukturelle ændringer i form af dilatation, fibrose, fedt infiltration i atrieerne (Van Wagoner & Nerbonne, 2000). I klinikken er der signifikant sammenhæng mellem længden af perioden med AF, og hvor god prognosen er for at konverterer til sinusrytme ved behandling. Tilbagefaldsraten er højere hos heste, der har haft AF over en længere periode (Reef *et al.*, 1988, Nattel, 2002).

3.3. Mekanismer bag atrieflimmer

Atrieflimmer forklares ud fra de to fænomener ”re-entry” eller ”circus movement”. Normalt vil hver atrie depolarisering blive dannet i SA knuden og spredes til AV knuden. Den refraktære periode følger efter hver depolariseringsbølge og forhindrer, at bølgen vender tilbage til SA knuden i stedet for at gå til AV knuden (Marr & Bowen, 2010). Der kan opstå forandringer i refraktær perioden, der skaber områder med lav ledningsevne og envejs blokade. Det vil give depolariseringsbølgen mulighed for at lave et loop tilbage (”re- entry”) (Grunnet, 2010) (fig. 6). ”Re-entry” er hurtigt cirkulerende myocardiell aktivering af et bølgeformet aktionspotentiale, som cirkulerer et område med blokade i ledningsevnen, derved restimuleres tidligere refraktorisk væv. Områderne med blokade vil være funktionelle (et

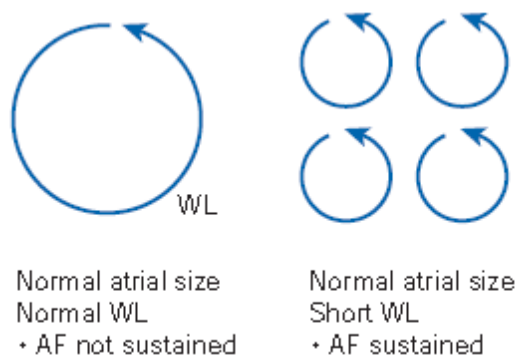
område af refraktorisk væv) eller anatomiske (myocardiell læsion) "re-entry" (Workman *et al.*, 2011).



Figur 6. "Re-entry" er et tilfældig og vedvarende loop af elektriske signaler.

Der ses i figuren både normal og "re-entry" signalering. Normalt vil det elektriske signal spredes gennem ikke ledende regioner til begge sider med lige hastighed (1 og 2). Når de mødes i 3 vil de møde refraktorisk væv og dø ud. Ved siden af ses "re-entry", der vises en envejs blokade i det skraverede område. Når signalet deler sig, vil det kun have mulighed for at gå i en retning. Det signal der går mod det skraverede område vil dø ud pga. envejs blokaden. Signalet der går gennem retning 1 har nu mulighed at fortsætte gennem 3 og derved lave "re-entry" via det skraverede område, som er envejs blokadet. Hvis signalet kommer tilbage til 1 i en periode hvor vævet ikke længere er refraktært, vil det give anledning til en restimulering af 1 og en selvopretholdende bølge kan startes. Den grønne stjerne viser elektrode optagelse af normal og arytmisk aktionspotentiale. Modificeret fra Grunnet. (2010).

Atrieflimmer, som resultat af multiple "re-entry" bølger, er en af de mest dominerende teorier (Moe & Abildskov, 1959, Nattel, 2002). I kanin atrier, kunne der opnås en tilstand af "re-entry" uden anatomiske forhindringer ved at give dem præmature ekstra stimuli (Allessie *et al.*, 1976, Allessie *et al.*, 1977). Det er baggrund for "leading circle" teorien om funktionel "re-entry". "Re-entry" længden er afhængig af bølgelængden, mens det maksimale antal bølger er afhængige af længden på den refraktære periode og ledningshastigheden i atrierne (Allessie *et al.*, 1977). Det kræver et stort antal bølger over kort tid for AF at opretholdes. Et stort antal bølger mindsker chancen for at møde en celle i refraktorisk eller stimulerbar tilstand, derved mindskes chancen for konvertering af AF (Moe & Abildskov, 1959). Mindskes bølgelængden vil cirkulationstiden falde, der bliver et øget antal cirkler og multiple "re-entry". Det vil forkorte refraktær perioden og er med til at vedligeholde AF (Nattel, 2002) (fig. 7).

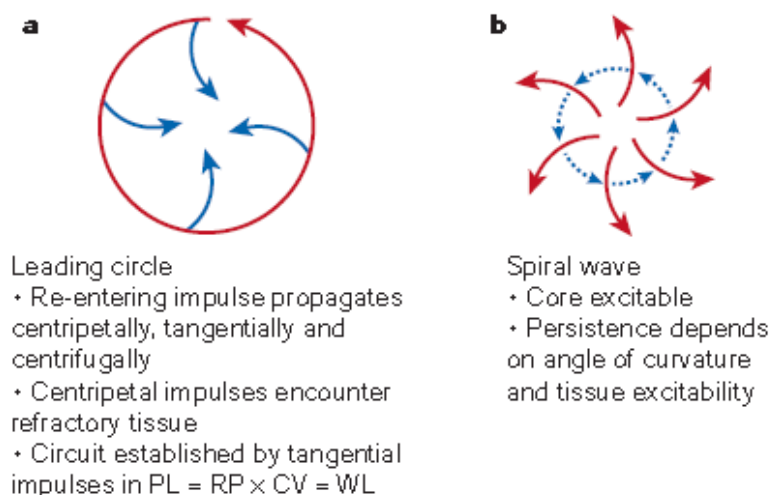


Figur 7. Bølgelængdens rolle i stabiliseringen af AF i "leading circle" modellen.

Funktionel "re-entry" cirklers størrelse er afhængig af bølgelængden. Kort bølgelængde giver plads til at flere cirkler kan køre samtidig og giver mulighed for at AF kan fortsætte (højre). WL- bølgelængde, AF- atrieflimmer. Modificeret fra Nattel. (2002).

Grundet atriernes størrelse og høje vagale tonus hos hest, er hesten en god kandidat til at udvikle AF (Bertone & Wingfield, 1987). Den vagale stimulation har indflydelse på AF, hvor den forkorter atriernes effektive refraktære periode, forkorter bølgelængden og fordeler stimuli ulige i atrieerne (Alessi *et al.*, 1958, Rensma *et al.*, 1988). Forkortelsen af den refraktære periode og variationen i refraktærtiden virker arytmisk. Under vagal stimulation genereres tidlige impulser, som påvirker områder med varierende stimulationspotentiale, hvilket giver mulighed for at "re-entry" mekanismen opstår (Abildskov *et al.*, 1971).

Teorien om "re-entry" og "leading circle" er blevet den mest anerkendte model til at forklare "re-entry" og AF i forskellige dyremodeller (Jalife, 2003). Der er nyere modeller til at forklare AF, der belyser de punkter "leading circle" ikke kan. I "leading circle" vil en blokade af Na^+ kanalerne sænke ledningshastigheden og forkorte bølgelængden, derved øges risikoen for AF (Nattel, 2002). Forsøg viser, at blokade af Na^+ kanaler er effektivt i forbindelse med behandling for AF (Workman *et al.*, 2011). En af de nye mere komplekse modeller til at forklare "re-entry" er "spiral wave" modellen (Jalife, 2003) (fig. 8).



Figur 8. Model for "re-entry" og indikationer for AF.

A, viser mekanismen for en funktionel "re-entry" via "leading circle" modellen. B, viser "spiral wave" modellens forklaring af "re-entry". CV-ledningshastighed. PL-vejlængde. WL- bølgelængde. RP- refraktær periode. Modificeret fra Nattel. (2002).

Modellen for "spiral wave" "re-entry" beskriver kurvede aktiverende bølger, der fordeles udadtil i stimulerbart væv i en spiral form. De yderste spidser har de største kurver og drejer rundt om en indre kerne. Forandringer i den effektive refraktære periode vil påvirke kernestørrelsen og forandre bølgespidsernes vinkel udgående fra kernen. Store kurver giver en lille kernestørrelse, kort åbning til stimulering og høj "re-entry" rate, hvilket skaber en kort cirkellængde medførende AF. Vinklen på kurverne påvirkes af bølgefrontens styrke, der er afhængig af I_{Na} . En reduktion af I_{Na} vil mindske kurverne, øge kernestørrelsen og mindske "re-entry" størrelsen, selvom der er en stimulerbar åbning, derved blokeres "re-entry". I_{K1} har også evnen til at øge "re-entry" raten, ved en forøgelse af I_{K1} . Forlænget effektiv refraktærperiode forårsaget af et forsinket fald i I_{K1} , kan ændre en stabil cirkel til en "spiral wave". Denne teori underbygger brugen af lægemidler, der blokerer Na^+ og K^+ som antiarytmika (Comtois *et al.*, 2005, Workman *et al.*, 2011).

3.4. Behandlingsstrategier for atrieflimmer

Den for tiden mest virksomme metode til behandling af AF humant er forlængelse af den refraktære periode. Forlænges den refraktære periode vil det have indvirkning på de cirkulerende impulser, der påvirker det refraktoriske væv og stoppe AF (Ravens, 2010). Der er lavet en klassificering af de lægemidler, man behandler AF med ud fra deres blokering af myocytternes ionkanaler (Vaughan Williams, 1984). Klassificeringen af lægemidler går fra I-IV. I blokerer Na^+ kanaler, II blokerer β -adrenerge receptorer, III blokerer K^+ kanaler og IV

blokerer Ca^{2+} kanaler. Der findes en del lægemidler, der blokerer mere end en kanal type og derfor ikke helt passer ind i denne klassificering. Klasse I lægemidler bliver yderligere inddelt i 3 undergrupper a, b og c. Disse undergrupper beskriver hvilken effekt lægemidlerne har på ledningshastighed, aktionspotentialets længde og den effektive refraktære periode (Vaughan Williams, 1984). Tabel 1 vil give en oversigt over nogle lægemidler til behandling af AF.

	Quinidin	Flecainid	Dofetilid	Ranolazin
Klasse	Ia	Ic	III	I
Studier i hest	10+	~ 6	Ingen	Ingen
Effekt på ionkanaler	Blokade af I_{Na} og I_{Kr}	Blokade af I_{Na} og I_{Kr}	Blokade I_{Kr}	Blokade af sene I_{Na} , I_{Kr} , I_{Ks} og L-type I_{Ca} kanaler.
Andre effekter	Antcholinerge, vagolytisk og negativ inotropisk effekt		β -adrenerge blokerende	
Konvertering af AF	80% hos heste uden underliggende hjertelidelser. Både ved adm. IV og PO	Konverterer ved induceret og paroxysmal AF (IV) i hest. Et forsøg med en hest med naturlig AF konverterede (PO). Konverterer ikke persisterende/permanent AF hos hest.	Humant: konverteringsrater på 46 % hos patienter med persisterende AF. Virker bedre mod persisterende end paroxysmal AF.	Ranolazin er effektiv til at forhindre AF (82%), konvertere AF (67%) og forhindre reinducering af AF (88%) i hundehjarter.
Kardiære virkninger	Forøgelse af: APD, ERP, WL, QT komplekset. Nedsat funktion af SA knuden og øget ledning gennem AV knuden. Medfører: Takykardi og kongestiv hjertestop, samt pludselig død og torsades de point	Forøgelse af: APD, ERP, WL, QT kompleks og QRS kompleks.	Forøgelse af: APD, ERP, WL, QT kompleks. Medfører: Torsades de point.	Forøgelse af: ADP, ERP, moderat forlængelse af QT kompleks. Forlænger atriernes ERP to gange mere end i ventriklen.
Bivirkninger Ekstra kardiære	Kolik, laminitis, ødem, hypotension, diarré, anoreksi, nasalt ødem, resp. stridor.	Depression, mild kolik, hyperventilation.	Hovedpine, brystmerter, svimmelhed, dyspnø, kvalme, mavesmerter, udslet	
Kilder	(Deem & Fregin, 1982, Morris & Fregin, 1982, Reef <i>et al.</i> , 1988, Risberg & McGuirk, 2006, Ravens, 2010, Workman <i>et al.</i> , 2011, Yang <i>et al.</i> , 2001)	(Vaughan Williams, 1984, Wang <i>et al.</i> , 1996, Ohmura <i>et al.</i> , 2000, Ohmura <i>et al.</i> , 2001, van Loon <i>et al.</i> , 2004, Risberg & McGuirk, 2006, Biretoni <i>et al.</i> , 2007, Workman <i>et al.</i> , 2011)	(Benson & Powless, 2003, Banchs <i>et al.</i> , 2008, Patel <i>et al.</i> , 2011, Workman <i>et al.</i> , 2011, Brumberg <i>et al.</i> , 2013)	(Antzelevitch <i>et al.</i> , 2004, Schram <i>et al.</i> , 2004, Antzelevitch & Burashnikov, 2009, Kumar <i>et al.</i> , 2009, Ravens, 2010, Burashnikov <i>et al.</i> , 2012)

Tabel 1. Oversigt over udvalgte lægemidler til brug ved AF.

APD = aktionspotentialet, ERP = effektiv refraktær periode, WL= bølgelængde, IV= intravenøs, PO = per oralt.

Det eksperimentelle studie

4. Materiale og metode

4.1. Hestene

Der indgik 9 travheste i studiet, 6 hopper og 3 vallakker med en gennemsnitsalder på 8½ år (4-14 år) med en gennemsnitsvægt på 491 kg (435- 532 kg). Alle heste fik lavet elektrokardiografi, ekkokardiografi, klinisk undersøgelse og en standard hæmatologisk og biokemisk blodprofil inden forsøgsstart.

4.2. Overordnet studie design

Det eksperimentelle studie var designet som et prospektivt, overkrydsningsdesign, kontrolleret, randomiseret, enkelt blindet kohorte studie. Kontrolgruppen undergik en procedure, hvor Ranolazin og Dofetilid bliver prøvet enkelvis og i en kombinationsbehandling, samt en saltvands kontrol procedure. Atrieflimmer behandlingsgruppen undergik en procedure, hvor de fik indlagt elektroder og stimuleret hjertet til AF indtraf. Efterfølgende blev der behandlet med Ranolazin, Dofetilid eller saltvand enkelvis og til slut kombinationsbehandlingen.

Alle heste blev ved ankomst opstaldet i samme stald og dagligt lukket på en separat fold. Hestene var opstaldet på Københavns universitetshospital i Tåstrup i fem uger, mens de gennemgik forsøg, hvorefter de blev aflivet.

Alle heste blev efter ankomst trænet syv til ti dage med tilvænning til tvangsboks og kliniske undersøgelse samt optagelse af et 24 timers EKG.

Hver hest gennemgik fire procedurer med syv dage imellem (wash out).

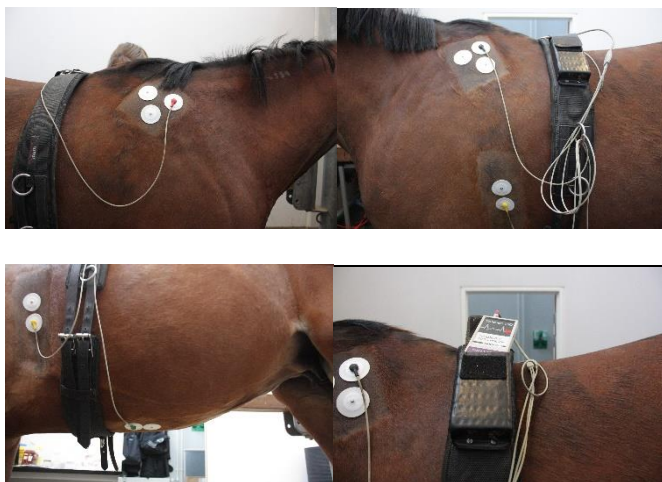
4.2.1. Kontrolforsøg med Dofetilid og Ranolazin

4.2.1.1. Præ-procedure

EKG blev optaget i 24 timer med Televet 100¹, der blev påsat inden starten på hver procedure. Elektroderne blev placeret som følgende; den negative (røde) afledning på højre scapula (hjerterbasis), den positive (gule) caudalt for venstre albue (over apex), den positive

¹ Kruuse A/S, Langeskov, Danmark.

(grønne) ved sternum caudalt for xiphoid processen og referencen (sort) på venstre scapula (bil. 1).



Billede 1. Placering af elektroder under forsøg og montering af Televet. Billede taget under forsøg.

Kateterne til blodprøvetagning og indgift af stof blev lagt i jugularvenen. Der blev lagt to til tre 12G katetre. Kateteret på venstre side til blodprøvetagning, kateteret/kateterne på højre side til indgift af stoffer.

4.2.1.2. Procedure

Indgiften i kontrolforsøget blev administreret IV over to rater.

Kontrol forsøg: Mængden af tildelt saltvand afspejlede mængden af indgift med lægemidlerne. 0,2 ml/kg IV totalt: Første dosis: 0,033 ml/kg IV (0,00625 ml/kg/min). Anden dosis: 0,067 ml/kg IV (0,00625 ml/kg/min).

Dofetilid forsøg: Human dosis for Dofetilid 8µg/kg IV (opløsning til forsøg = 0,2 ml/kg IV). Første dosis: 2,66 µg/kg IV (0,5 µg/kg/min). Anden dosis: 5,34 µg/kg IV (0,5 µg/kg/min).

Ranolazin forsøg: Ranolazin administreres humant PO. I forsøg på gris med indgift IV bruges 2,4 mg/kg (Kumar *et al.*, 2009). Første dosis: 0,80 mg/kg IV (0,5 µg/kg/min). Anden dosis: 1,60 mg/kg IV (0,5 µg/kg/min).

Kombinationsbehandlingen med Dofetilid og Ranolazin: Første dosis: 2,66 µg/kg Dofetilid IV samtidig med 0,8 mg/kg Ranolazin IV (0,5 µg/kg/min). Anden dosis: 5,34 µg/kg Dofetilid IV samtidig med 1,60 mg/kg Ranolazin IV (0,5 µg/kg/min).

Blodprøverne blev opsamlet til tiderne: før stof indgift, 1 min efter dosis 1, 20 min efter dosis 1, 1 min efter dosis 2, 20 min efter dosis 2, 40 min, 1 time, 1½ time, 2 timer, 4 timer, 10 timer, 16 timer og 24 timer.

4.2.1.3. Post-procedure

Hestene blev monitoreret 2 timer efter hver procedure. Televetten blev på i 24 timer efter den sidste stof injektion (bil. 2).



Billede 2. Hest med EKG udstyr på i boksen. Billede taget under forsøget.

På billedet ses hvordan udstyr blev sikret, så hesten kunne stå med EKG på i boksen. Kateteret blev liggende i venstre jugularvene til blodprøvetagning.

4.2.2. *Atrieflimmer behandlingsforsøg med Dofetilid og Ranolazin*

4.2.2.1. Præ-procedure

EKG blev optaget med Televet, påsat inden procedurerens start. EKG blev optaget i 24 timer (beskrevet under kontrol procedure (bil. 1) s. 22-23).

LabChart EKG² blev optaget under forsøget. Der blev anvendt to uafhængige EKG afledninger (standard base-apex og P tak afledning), der løb samtidig med det intraatriale EKG (fig. 9).

² Animal Bioamplifier, ADInstruments Ltd, Oxford, UK.

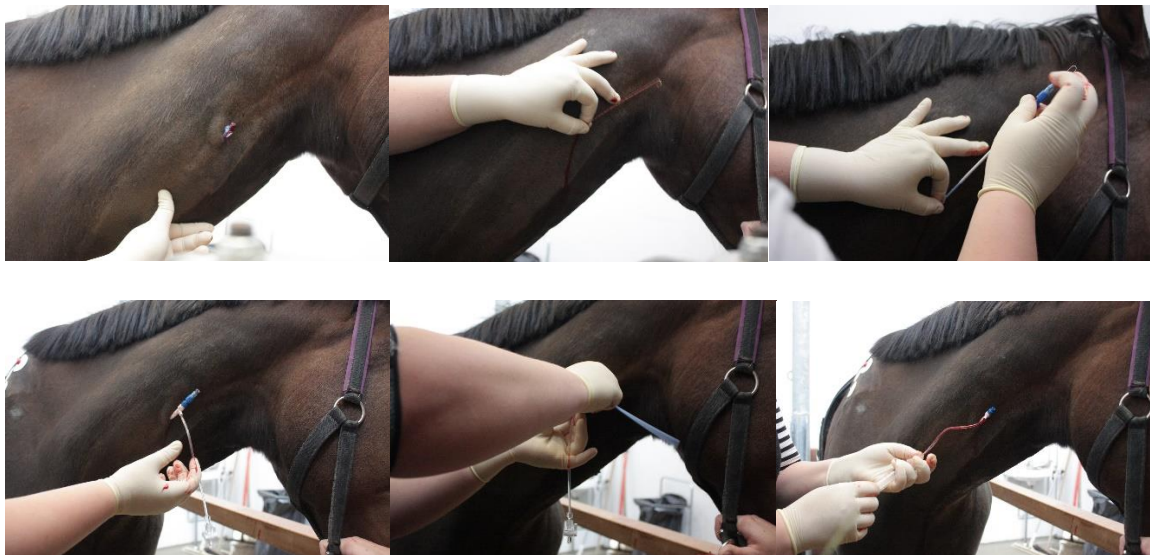


Figur 9. LabChart fra hest i sinusrytme.

Det intraatriale elektrogram ses øverst, nedenunder ses P tak afledningen fra overflade EKG'et, derunder ses stimuli (grøn streg) og i bunden ses base-apex afledningen. Elektroden ligger i atriet, hvor det intrakardiale elektrogram signalerer samtidig med starten af P takken. Billede fra hest under forsøget.

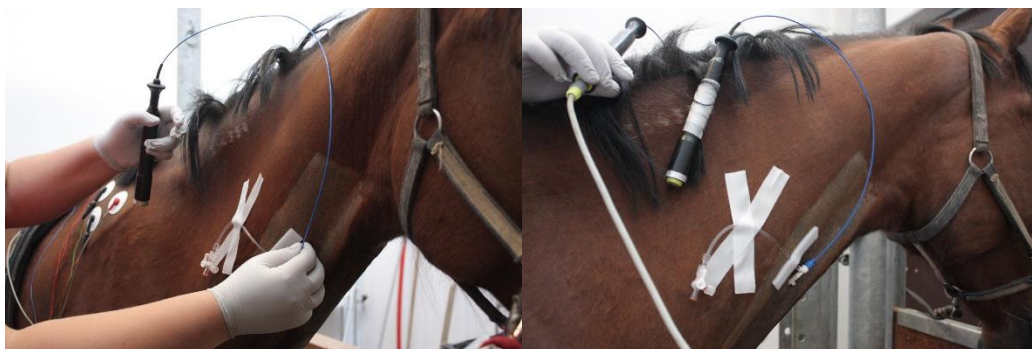
Der blev lagt to katetre i højre og et i venstre side af jugularvenen.

Intraatriale og pacing elektroder blev anlagt i kateterne på højre side (bil. 3 og 4).



Billede 3. Anlæggelse af kateter til elektrode.

Der blev lagt en guidewire ned i 12G kateteret, hvorefter kateteret blev trukket ud, så kun guidewiren var tilbage. Et 7F (7F-ACT sheath og SJM peel-Away introducer 7F) kateter³ blev ført ned over guidewiren og ned i venen. Guidewiren blev taget ud og den lyseblå del af kateret fjernet. Billede taget under forsøget.



Billede 4. Anlæggelse af elektroder til pacing.

8-polar elektroden blev ført gennem introduktionsdelen af 7F kateret til det højre atrie og toppen af 7F kateret blev skruet fast om elektroden. Billede taget under forsøg.

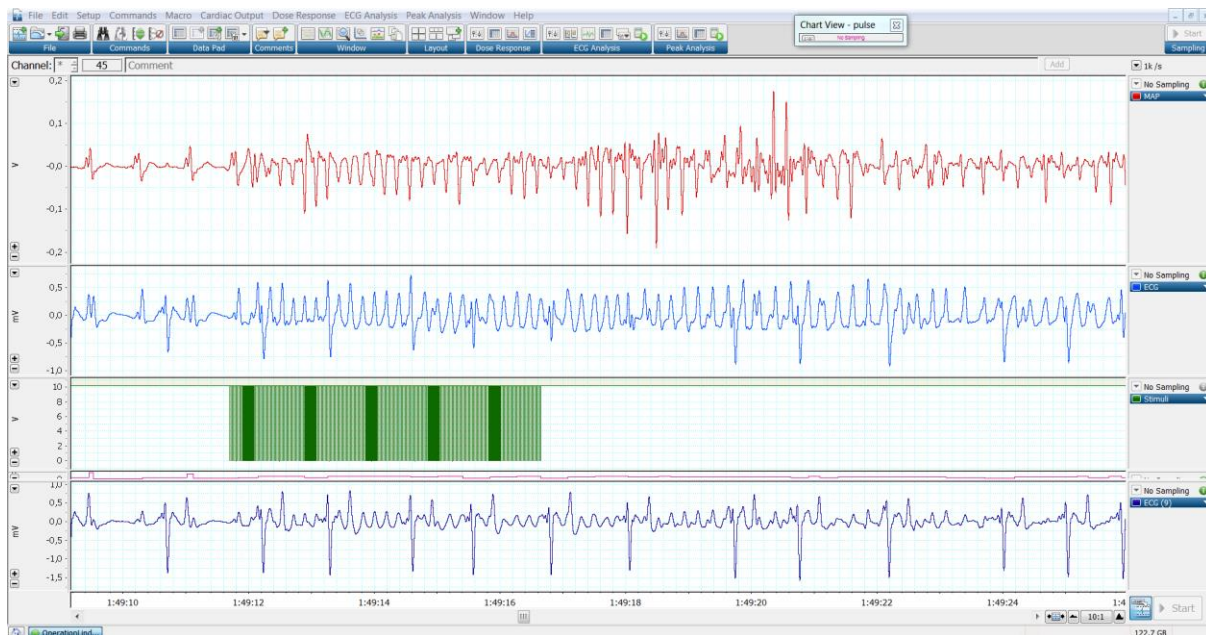
Efter elektrodernes anlæggelse i atrierne (fig. 9), blev de skiftet til en stimulator og testet for capture.

4.2.2.2. Procedure før indgift af stoffer

Tærskelværdi for pacing blev bestemt inden hesten fik induceret AF.

Induktion af AF blev foretaget ved at burst pace atriet i 5-6 sek (fig. 10). Hvis hesten kom i AF, blev den ikke pacet, før den var i sinusrytme igen. Atrieflimmer blev anset som persisterende, hvis heste var i AF i mere end 15 min (Ohmura *et al.*, 2000).

³ Argon medical devices, Athen.



Figur 10. Hest der burst paces i AF

De grønne streger er det interval der burst paces. Før hesten burst paces, kan der ses en normal sinusrytme og efter at hesten er gået i AF. Billede fra hest under forsøget.

4.2.2.3. Procedure under og efter stofindgift

Blodprøverne blev taget til tiderne: før indgift af stof, 1 min efter hver af de fire doser, efter konvertering til sinusrytme, 4 timer og 24 timer efter AF induktion.

Indgift med stofferne skete over fire gange med 20 min mellem hver dosis. Kontrol med saltvand, Dofetilid og Ranolazin procedurerne blev udført i en randomiseret rækkefølge, kombinationsbehandlingen gennemgik alle heste i den sidste uge.

Kontrol: Total dosis: 0,2 ml/kg IV. Første dosis: 0,0075 ml/kg, anden dosis: 0,0148 ml/kg, tredje dosis: 0,0444 ml/kg, fjerde dosis: 0,1333 ml/kg (0,0125 ml/kg/min).

Dofetilid: Total dosis på 8µg/kg IV. Første dosis: 0,296µg/kg, anden dosis: 0,593µg/kg, tredje dosis: 1,778µg/kg, fjerde dosis: 5,333µg/kg (0,0125ml/kg/min).

Ranolazin: Total dosis på 2,4mg/kg IV. Første dosis: 0,104mg/kg, anden dosis: 0,208 mg/kg, tredje dosis 0,624 mg/kg, fjerde dosis: 1,872mg/kg (0,0125 ml/kg/min).

Kombinationsbehandling: Dofetilid blev kun administreret første gang, dosis var bestemt af sidste ineffektive dosis under Dofetilid forsøget i den pågældende hest. Ranolazin blev givet i samme fire doser som i Ranolazin forsøget. Stofferne blev indgivet ved samme hastighed, som da de administreredes individuelt.

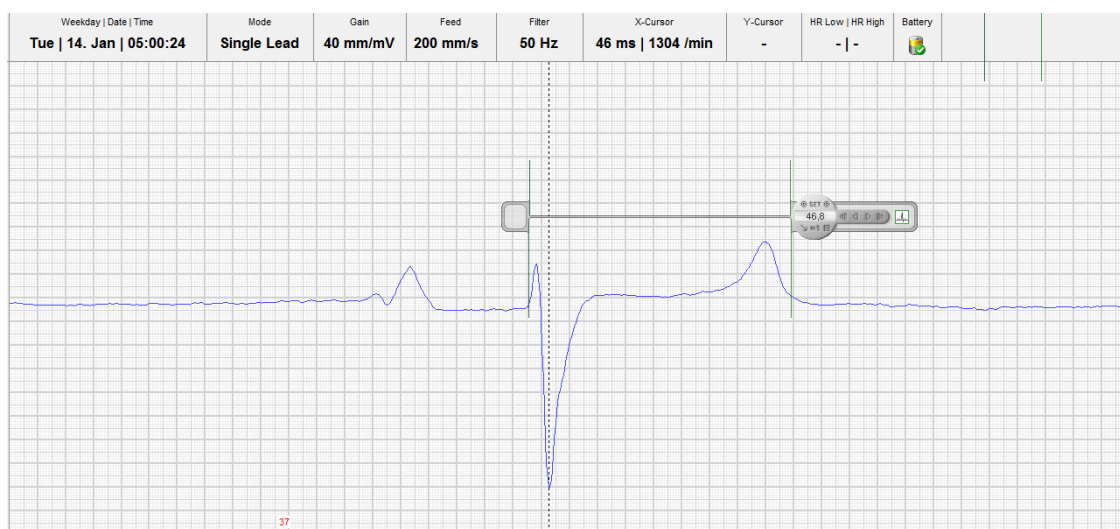
Forblev hesten i AF 30 min efter fjerde dosis, blev der ikke udført flere målinger.

Konverterede hesten blev hesten forsøgt AF induceret igen efter fjerde dosis.

4.3. EKG analyser

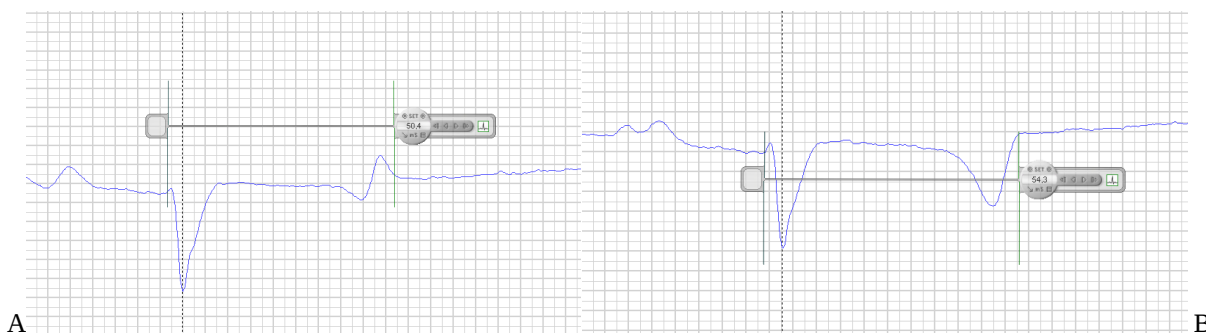
EKGet blev optaget på Televet og behandlet i programmet Televet 100. Målingerne af QT intervallerne blev foretaget manuelt i Televets program via måleredskabet Cardio Calipers⁴. QT intervallet blev målt fra starten af Q takken til slutningen af T takken. T takkens slutning blev visuelt bestemt, som punktet hvor T takken når den isoelektriske baseline (Pedersen *et al.*, 2013).

Det illustreres, hvordan QT intervallet blev målt under forskellige omstændigheder på 24 timers EKGerne (fig. 11-12).

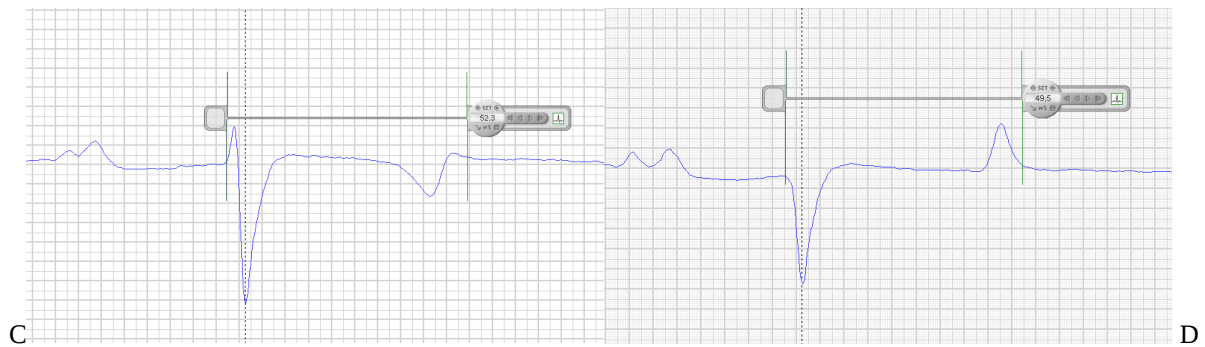


Figur 11. Standard QT måling fra hest 1.

Her ses en standard QT måling på en hest, hvor det er nemt at erkende starten af Q takken og slutningen af T takken. Taget fra hest 1 under 24 timer EKG monitorering.



⁴ Iconico, Inc.



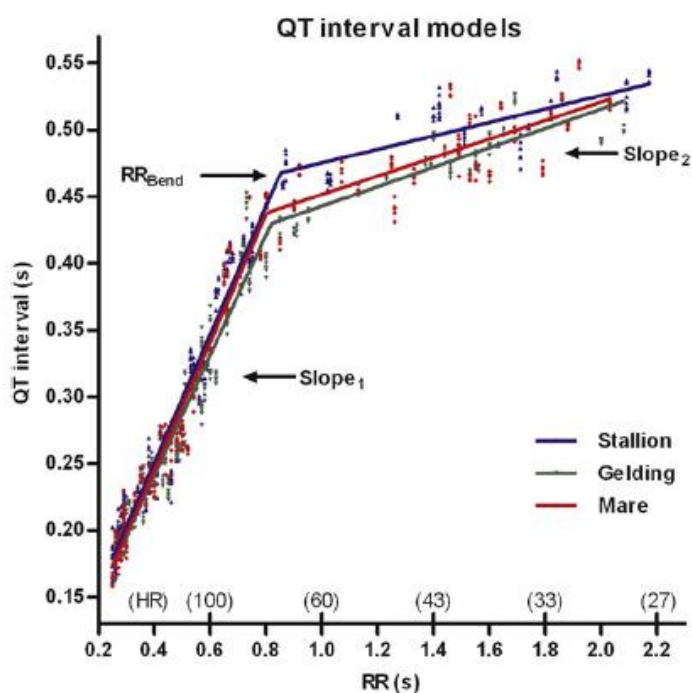
Figur 12. QT måling ved Q og T tak morfologiske ændringer.

A, Her ses hvordan der foretages en måling ved en bifasisk T tak. Taget fra hest 2 under 24 timer EKG monitorering. B, Der kan ikke synligt erkendes en positiv T tak og der måles derfor til baseline fra Q til T_{peak1} . QT måling fra hest 2 efter kombinationsbehandling. C, Der ses ikke nogen klar afslutning på T takken og afslutning vurderes efter hvor den formodes at være fladet ud til niveau med baseline. QT måling af hest 1 efter kombinationsbehandling D, Der kan ikke erkendes nogen synlig Q tak, og målingen starter der, hvor baseline slutter, før R takken bliver negativ. QT målingen er fra 24 timers EKG hos hest 4.

Data fra 24 timers EKG'erne blev anvendt til bestemmelse af en lineær regression.

Hældningen blev brugt til korrektion af QT intervallet for ændringer i puls. I forsøg vist, at hestens QT korrektion (QT_c) kunne udtrykkes via en bifasisk lineær regression, der korrigerede for puls (RR) (Pedersen *et al.*, 2013) (fig. 13). Yderligere forsøg viste, at hældningen på den bifasiske lineære regression er forskellig i henhold til race (Pedersen 2014, personlig kommunikation).

QT målingerne blev foretaget på steder, hvor der var stabil puls under $60 \text{ slag/min} \pm 5$ pulsslag. Derved kunne der benyttes en korrektionsformel til alle data. Der blev målt fem QT intervaller hver hele time $\pm 10 \text{ min}$ i 24 timer.



Figur 13. Bifasisk lineær regression QT/RR.

Model for QT intervallets pulsafhængighed /RR hos heste. Den bifasisk lineære regression er gældende for alle køn. Den består af en hældning 1 (slope1), gældende for pulsværdier over 60 slag/min ($R=1$). Ved puls 60 slag/min ses et knæk (RR_{bend}) og for pulsværdier under 60 slag/min ses hældning 2 (slope2), der er en fladere lineær regression. $RR=60/HR$. HR = puls. Modificeret fra Pedersen et al. (2013).

Målingerne af QT intervallerne ved procedurerne hos kontrolgruppen blev udført til tiderne: Før indgift af stof, 20 min efter indgift af dosis 1, 20 min efter indgift af dosis 2, 40 min efter dosis 2, 1 time, 2 timer, 4 timer, 10 timer og 20 timer efter dosis 2.

Målingerne af QT intervallerne i AF behandlingsgruppen blev foretaget på heste, der var konverteret fra AF til sinusrytme og ikke var underlagt pacing til tiderne: Før indgift af stof, 1 time efter indgift af dosis 4, 2 timer efter dosis 4, 4 timer, 10 timer og 20 timer efter dosis 4.

4.4. Statistiske metodebeskrivelse og data analysemetode

Data blev indtastet og QTc beregnet i Excel⁵. Statistisk bearbejdelse via GraphPad InStat⁶ med en ensidet variansanalyse (ANOVA) til vurdering om QT intervallet var signifikant forlænget i forhold til referencen (24 timers QTc intervallerne for de 9 heste). Der blev anvendt Dunnett's multiple comparison test til parvis sammenligning af data.

⁵ Microsoft office Excel 2013, Microsoft Corporation, Redmond USA

⁶ GraphPad InStat 10.3, Graph pad software Inc., Ca, USA.

QT *lag* effekt på QT intervallet blev mindsket ved at lave et gennemsnit af ti RR intervaller, hvor pulsen var stabil. Målingen af puls blev foretaget inden måling af de efterfølgende fem QT intervallet (fig. 14).



Figur 14. Måling af puls med Cardio calipers i televet.

Der findes et sted hvor pulsen ligger under 60 slag/min. Pulsen skal ligge stabilt i dette område og der måles med Cardio Calipers, ti RR intervaller. Modifieret fra egne data i Televet.

Til at beskrive den bedst tilpassede QT/RR lineære regression for 24 timers EKGerne blev programmet GraphPad Prism⁷ anvendt.

Ud fra den lineære regression blev hældning og skæringspunkt med Y-aksen fundet. Linjen bliver givet ved formlen: $QT = \text{Hældning} * RR + \text{Skæringspunkt}$.

Til QT korrektion (QTc) for pulsværdien anvendtes korrektionsformlen (gældende for hest med puls under 60 slag/min): $QTc = (\text{hældning} \times 1000 + \text{skæringspunkt}) + (QT - QT_i)$. QT_i er værdien for en standard studiespecifik hest (en gennemsnits hest ved en given RR): $QT_i = \text{hældning} \times RR \times 1000 + \text{skæringspunkt}$ (Pedersen 2014, personlig kommunikation).

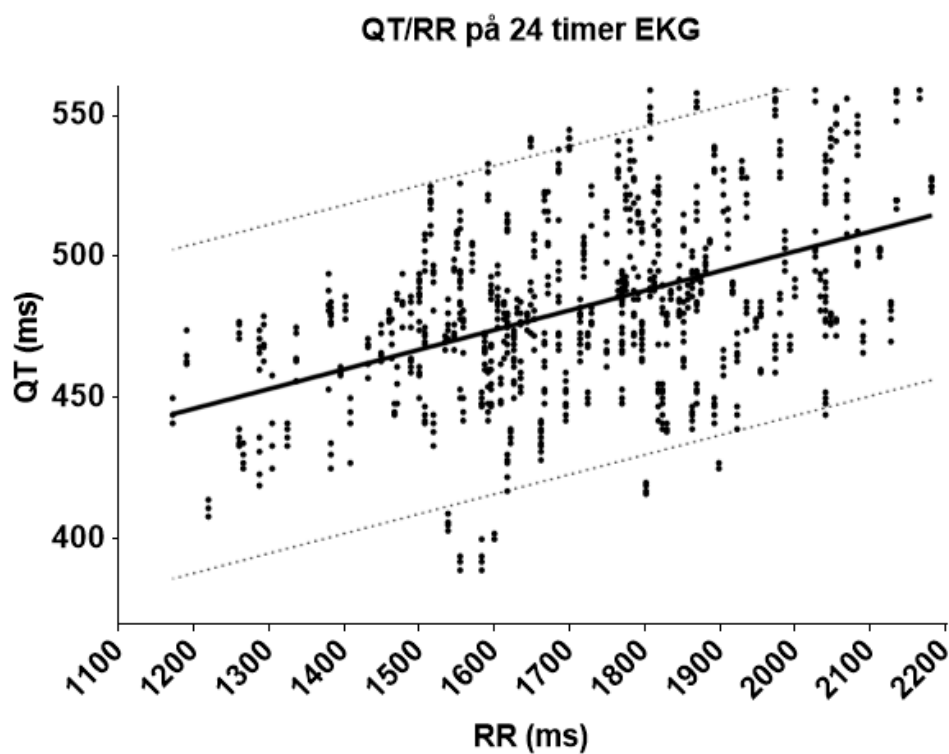
⁷ Graph pad prism 6.04., Graph pad software Inc., Ca, USA.

5. Resultater

5.1. 24 timers EKG

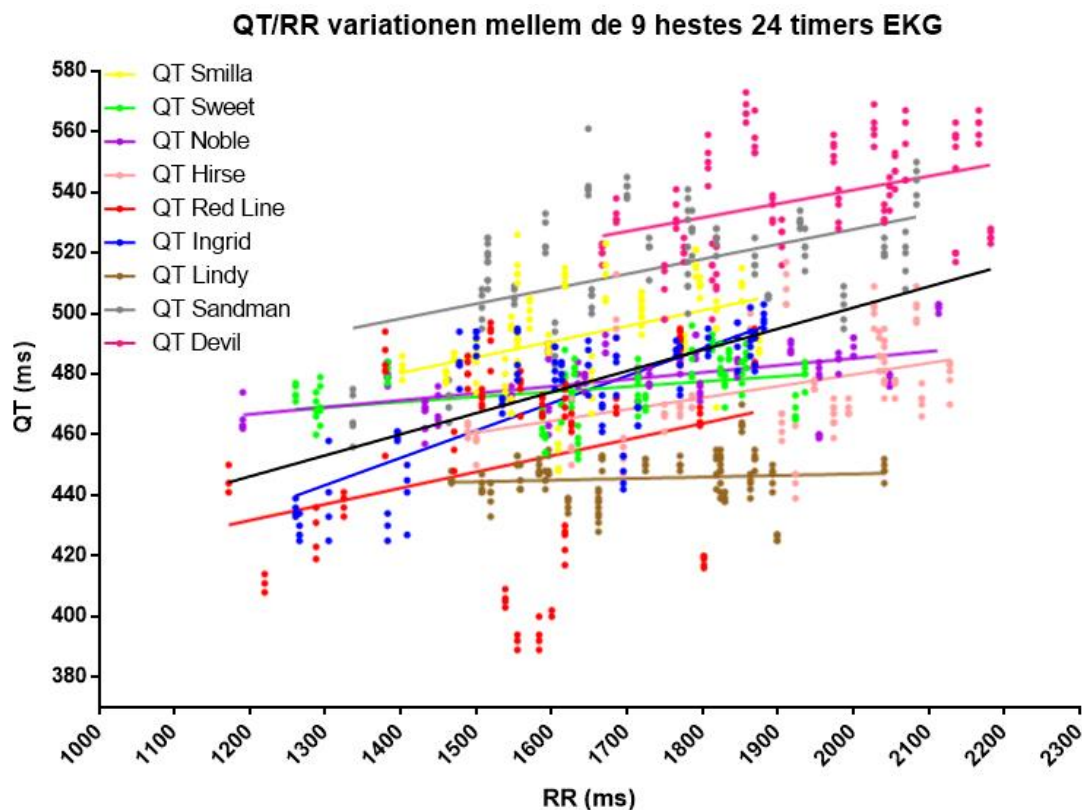
Den lineære regression for de 9 heste (fig. 15) har en hældning = 0,06962, Skæringspunkt = 362,7 og en middelværdi = $432,44 \pm 29,35$. (Bilag, tabel 1 og 2)

De enkelte hestes lineære regression kan se i figur 16 (bilag, tabel 3).



Figur 15. QT/RR lineær regression på de 9 hestes 24 timers EKG

Figuren viser den bedste lineære regression opnået med et gennemsnit af fem QT målinger hver time i 24 timer for hestene i forsøget. De stiplede linjer viser 95% konfidensintervallet. Fra GraphPad Prism.



Figur 16. QT/RR variation mellem de enkelte 9 hestes 24 timers EKG'er.

Hestene er markeret med hver sin farve. De farvede streger viser den enkelte hests lineære regression og de farvede punkter hestens variation i QT målingerne (bilag, tabel 3). Lilla- hest 1, gul- hest 2, grøn-hest 3, lyserød- hest 4, rød-hest 5, blå-hest 6, brun-hest 7, grå-hest 8, pink-hest 9. Den sorte linje viser den bedste rette linje ud fra de 9 hestes QT målinger. Fra GraphPad Prism.

Hestenes QT intervaller for 24 timers EKG'er anvendes som reference til sammenligning med QTc intervallerne for procedurerne med de forskellige stoffer.

5.2. Kontrolforsøg

De 3 heste i forsøget udviste god tolerance over for indgift af Dofetilid, Ranolazin og kombinationsbehandlingen af de to stoffer indgivet IV over to doser. Der blev ikke observeret nogen kliniske bivirkninger.

Resultaterne for kontrolgruppens behandlingsstrategier og deres effekt på forlængelse af QT intervallet, jævnfør tabel 2 nedenfor. (Bilag, tabel 4-7).

Tid/Stof	Dofetilid ($P < 0.05$)	Ranolazin ($P < 0.05$)	Kombinationsbehandling ($P < 0.05$)	Kontrol ($P < 0.05$)

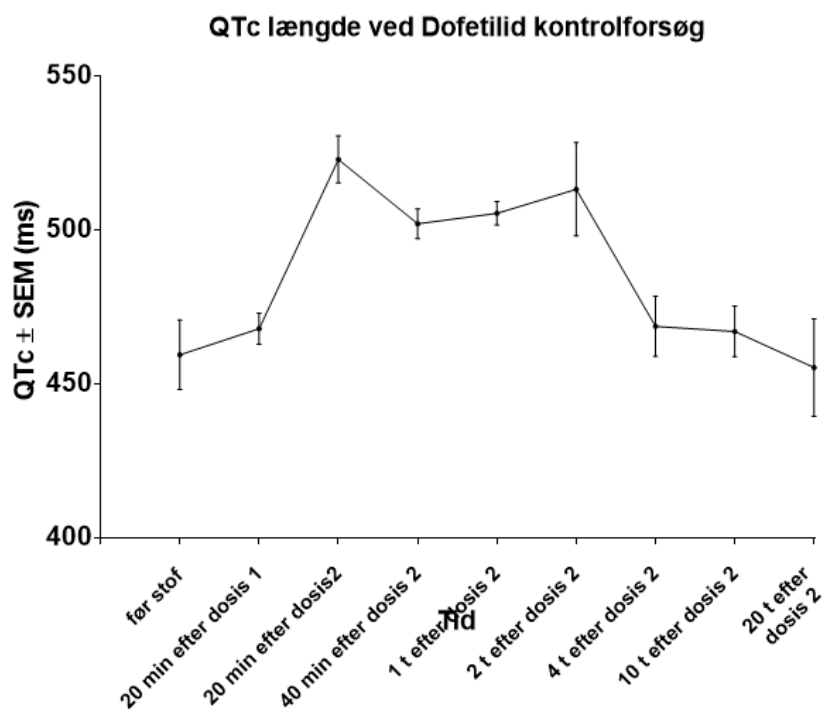
Før stof	q=1,629	q=2,036	q=1,950	q=0,1428
20 min efter dosis 1	q=2,140	q=2,452	q=4,108	q=1,449
20 min efter dosis 2	q=5,448	q=2,728	q=6,104	q=1,287
40 min efter dosis 2	q=4,193	q=0,4909	q=4,185	q=1,807
1 time efter dosis 2	q=4,369	q=1,169	q=5,074	q=1,263
2 timer efter dosis 2	q=4,865	q=1,870	q=4,334	q=1,398
4 timer efter dosis 2	q=2,185	q=1,544	q=2,900	q=0,1615
10 timer efter dosis 2	q=2,085	q=2,247	q=1,816	q=0,3924
20 timer efter dosis 2	q=1,380	q=2,254	(-)	(-)

Tabel 2. Resultater for kontrolforsøget.

Signifikant, QTc længden for indgift af pågældende stof vurderes til at være statistisk signifikant forlænget i forhold til referenceværdierne ($P < 0.05$), ved $q > 2,718$. Ikke signifikant, QTc længden for indgift af pågældende stof vurderes til ikke at være statistisk signifikant forlænget i forhold til referenceværdierne ($P < 0.05$), ved $q < 2,718$. (-) er ensbetydende med at data manglede for hesten i kontrolgruppen til pågældende tid.

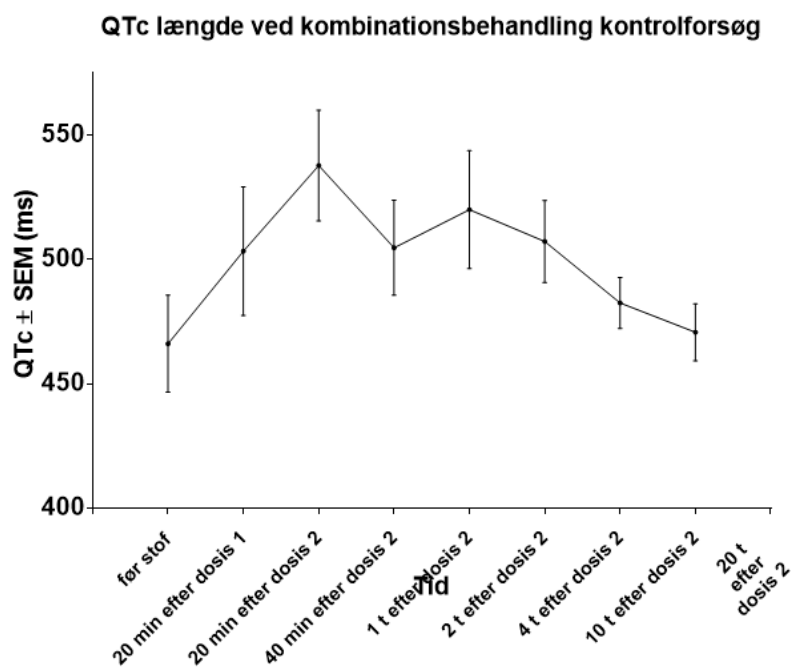
QTc maksimum længde ved indgift med Dofetilid opnås 20 min efter indgift af dosis 2 (fig. 17). QTc maksimum længde ved indgift med kombinationsbehandlingen opnås 20 min efter indgift af dosis 2 (fig. 18).

QTc længde efter indgift af Dofetilid vurderes i forhold til QTc længden efter indgift af kombinationsbehandlingen, for at vurdere en evt. signifikant forlængelse af QTc. Der blev ikke fundet nogen signifikant forskel på QTc længden ved indgift med Dofetilid i forhold til kombinationsbehandlingen.



Figur. 17. QTc længde ved indgift med Dofetilid under kontrorforsøget.

Her ses QT længden for de forskellige tidspunkter der er målt. Det ses at QT længden topper 20 min efter dosis 2 og er forlænget gennem tiderne frem til to timer efter dosis 2. Fra GraphPad Prism.



Figur 18. QTc længde ved kombinationsbehandling under kontrorforsøget.

Her ses QT længden for de forskellige tidspunkter. Det ses at QT længden topper 20 min efter dosis 2 og er forlænget frem til 2 timer efter indgift af dosis 2. Fra GraphPad Prism.

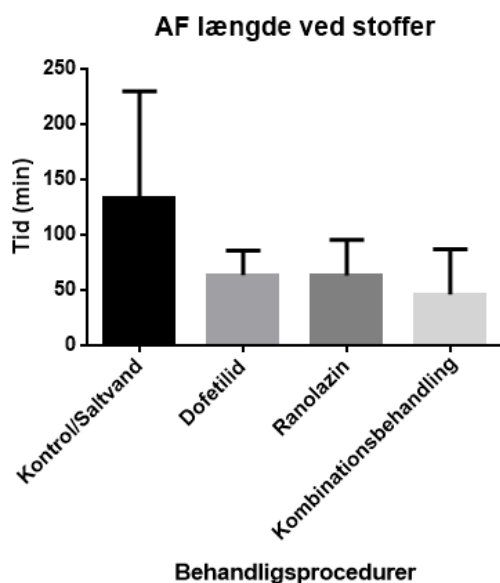
5.3. Atrieflimmer behandlingsforsøg

De 6 heste i forsøget udviste god tolerance over for indgift af Dofetilid, Ranolazin og kombinationsbehandlingen indgivet IV over fire doser. Der blev ikke observeret nogen kliniske bivirkninger.

5.3.1. Konverteringstid

De 6 forsøgsheste konverterede fra AF til sinusrytme ved indgift af Dofetilid efter $63,67 \pm 22,16$ min fra start af AF. Efter indgift af Ranolazin konverterede hestene til sinusrytme efter $63,33 \pm 32,02$ min. 5 heste konverterede inden for 30 min efter indgift af dosis 4, som angav forsøgstiden. Én hest konverterede senere i boksen efter indgift af kombinationsbehandlingen (denne hest medtages i beregningerne). De 6 forsøgsheste konverterede ved indgift af kombinationsbehandlingen efter $46,17 \pm 40,85$ min fra start af AF. Under kontrol med saltvand konverterede 2 heste hhv. 1 og 3 min efter første saltvands indgift (de 2 heste medtages i beregningerne) (Bilag, tabel 8). Alle heste konverterede med en middelværdi = $133,3 \pm 96,63$ min fra starten af AF (fig.19).

Hestenes tid i AF inden de konverterede til sinusrytme for de forskellige behandlinger blev sammenlignet med tiden for kontrol med saltvand. Der var signifikant ($P < 0,05$) kortere tid i AF for hestene ved kombinationsbehandlingen i forhold til kontrol med saltvand (bilag, tabel 9).



Figur 19. Atrieflimmer varighed

Figuren viser AF varighed ved behandling med kontrol med saltvand, Dofetilid, Ranolazin og kombinationsbehandlingen. Fra GraphPad Prism.

5.3.2. QT interval

Resultaterne for AF behandlingsgruppens behandlingsstrategier og deres effekt på forlængelsen af QT intervallet, jævnfør tabel 3 nedenunder. (Bilag, tabel 10-13).

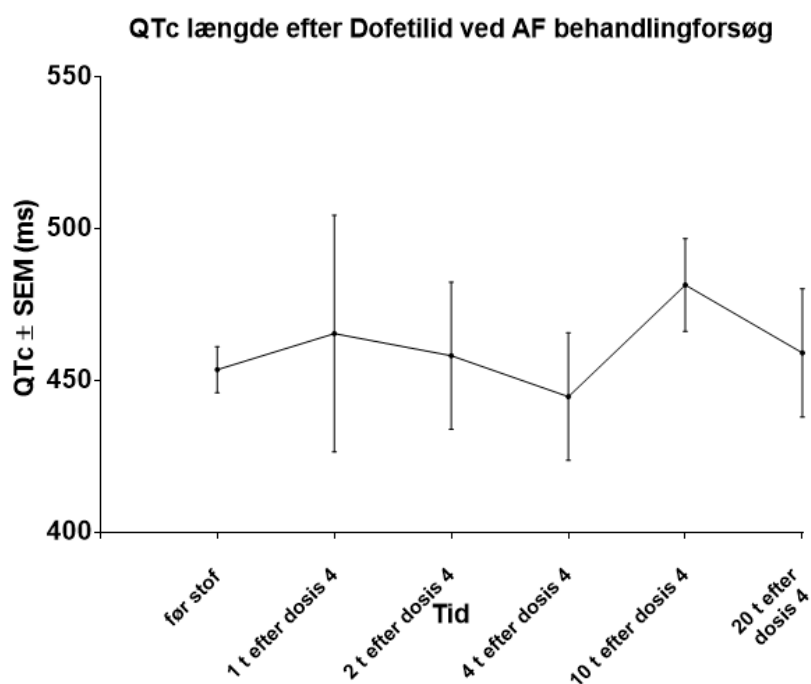
Tid/stof	Dofetilid (P<0.05)	Ranolazin (P<0.05)	Kombinationsbehandling (P<0.05)	Kontrol (P<0.05)
Før stof	q=1,361	q=2,547	q=1,793	q=1,764
1 timer efter dosis 4	q=2,121	q=1,009	q=1,703	q=0,7967
2 timer efter dosis 4	q=1,654	q=0,02036	q=1,009	q=0,6446
4 timer efter dosis 4	q=0,7889	q=0,04423	q=1,713	q=1,070
10 timer efter dosis 4	q=3,149	q=2,409	q=2,827	q=0,6538
20 timer efter dosis 4	q=1,487	q=1,731	q=2,899	q=2,465

Tabel 3. Resultater for AF behandlings forsøg.

Signifikant, QTc længden for indgift af pågældende stof vurderes til at være statistisk signifikant forlænget i forhold til referenceværdierne (P<0.05), ved q>2,591. Ikke signifikant, QTc længden for indgift af pågældende stof vurderes til ikke at være statistisk signifikant forlænget i forhold til referenceværdierne (P<0.05), ved q<2,591.

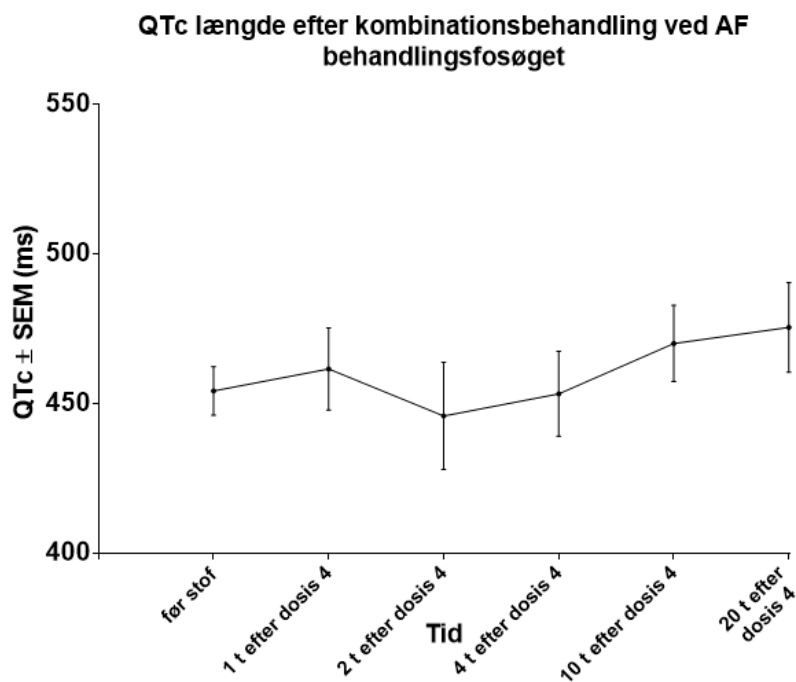
QTc maksimum længde efter indgift med Dofetilid opnås 10 timer efter indgift af dosis 4 (fig. 20). QTc maksimum længde efter indgift af kombinationsbehandlingen opnås 20 timer efter indgift af dosis 4 (fig. 21).

QTc længde efter indgift af Dofetilid vurderes i forhold til QTc længden efter indgift af kombinationsbehandlingen, for at vurdere en evt. signifikant forlængelse af QTc. Der blev ikke fundet nogen signifikant forskel på QTc længden ved indgift med Dofetilid i forhold til kombinationsbehandlingen.



Figur 20. QTc længde ved indgift af Dofetilid under AF behandlingforsøget.

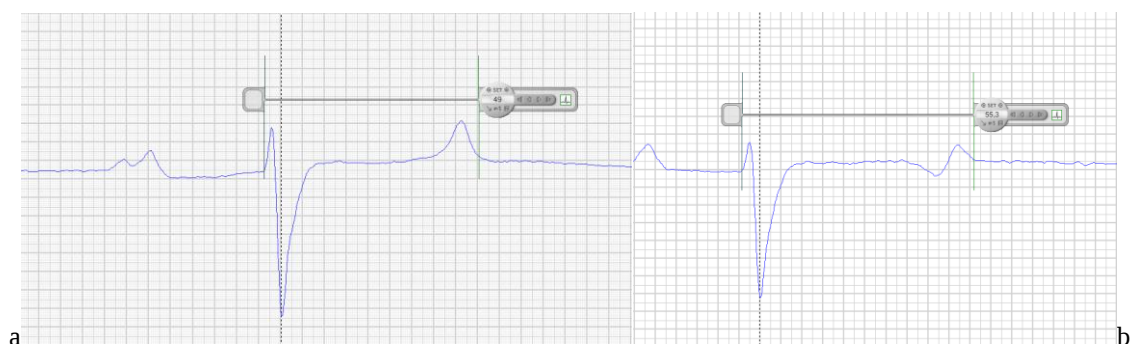
Her ses QT længden for de forskellige tidspunkter. Det ses at QT længden toppe 10 timer efter dosis 4. Der ses også en lille forlængelse 1 time efter dosis 4 og derefter et fald, inden det stiger igen for at toppe 10 timer efter dosis 4. Fra GraphPad Prism.



Figur 21. QTc længde efter kombinationsbehandling ved AF behandlingsforsøget.

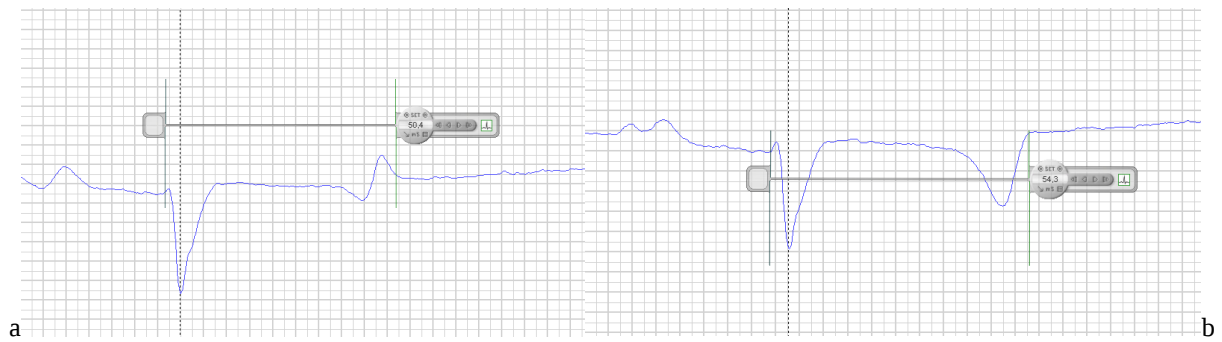
Her ses QT længden for de forskellige tidspunkter. Det ses at QT længden topper 20 timer efter dosis 4, og er signifikant forlænget frem til tiderne 10 timer og 20 timer efter dosis 4. Fra GraphPad Prism.

Under QT interval målingerne for både kontrorforsøg og AF behandlingsforsøg, blev der observeret ændringer af T taks morfologien fra før indgift af Dofetilid og kombinationsbehandlingen og efter. Heste med positiv T tak før proceduren fik en bifasisk T tak efter indgift med Dofetilid og kombinationsbehandling (fig. 22). Heste med bifasisk T tak før proceduren fik en mere negativ T tak efter indgift af Dofetilid og kombinationsbehandling (fig. 23).



Figur 22. QT interval før og efter indgift med Dofetilid, hest 1.

På billede a ses en positiv T tak. Billede b, samme hest efter indgift med Dofetilid. Hestens T tak ændrer morfologi og bliver bifasisk. Billedet modificeret fra egne målinger fra forsøget.



Figur 23. T taks morfologi for hest 2

Figuren viser, den ændring der ses for T takkens morfologi for hest 2 fra før procedure (a) og hest 2 efter den har fået kombinationsbehandlingen (b). Modificeret fra egne målinger i Televet.

6. Diskussion

Forsøget med Dofetilid, Ranolazin og kombinationsbehandlingen skulle undersøge, om behandlingen med disse stoffer var et sikkert og effektivt alternativ til de eksisterende behandlingsstrategier. De antiarytmiske risici ved behandlingerne blev vurderet bl.a. ved måling af QT interval forlængelser.

6.1. Metode og data analyser

Procedurerene fra kontrolforsøget forløb godt og i henhold til den opstillede protokol.

Datasætte opnået i forbindelse med kontrolgruppen var af god kvalitet og kun med manglende data 20 timer efter kombinationsbehandling og kontrol, hvor alle data manglede. Der var på trods af den lille forsøgsgruppe en god ensartethed i de indhentede data.

Atrieflimmer behandlingsforsøgets procedure gav nogle udfordringer, der påvirkede resultaterne i forbindelse med AF varigheden. Atrieflimmer blev efter 15 min antaget at stemme overens med en persisterende AF i forsøget. Ved naturligt AF ville 15 min ikke kunne kategoriseres som en persisterende tilstand, men som en paroxysmal tilstand (Patel *et al.*, 2011). Der kunne være anvendt andre metoder fx med naturlige AF heste eller en metode, hvor hestene burst paces over flere uger. Sidstnævnte metode har i et forsøg skabt en længerevarende AF hos en pony (Loon *et al.*, 2000). Under forsøget konverterede 2 ud af 6 heste fra AF til sinusrytme 1-3 min efter indgift med første dosis saltvand (bilag, tabel 8). Det ville øge sikkerheden på resultaterne, hvis de 2 heste blev taget ud af datasættet. Det var ikke muligt pga. få værdier i nogle af datasættene. Det blev under forsøget observeret, at der ikke kunne drages en sammenhæng mellem de heste, der konverterede tidligt på saltvand og en tidlig konvertering ved behandling med Ranolazin, Dofetilid eller kombinationsbehandlingen. Hestene fik lagt pacing elektroderne manuelt uden fastgørelse til atrievæggen. Det medvirker til varierende kontakt med atrievæggen. Usikkerheden på placeringen ville kunne minimeres ved anvendelse af skrue elektroder og fluoroscopic guidning (Mehdirad *et al.*, 1999).

Atrieflimmer behandlingsforsøget indeholdt 6 heste. Der fandtes en række mangler i de indsamlede EKGer for denne gruppe heste. Der var heste, der ikke havde optagelser for hele procedurer og mange steder manglede der dele af EKGerne. Datasættene for forsøget var meget mangelfulde, og beregningerne blev udregnet ud fra et meget varieret antal heste hen over tiderne for QT interval målingerne. Stikprøvestørrelsen til de enkelte tider svingede fra 2-6 heste. De statistiske analyser for AF behandlingsforsøget var underlagt store statistiske

usikkerheder, det ville kræve et større antal ekstra heste for at kunne give en større sikkerhed på resultaterne.

Data indsamlingen til målinger af QT længden blev foretaget manuelt. Manuel måling kunne udgøre en usikkerhed i ensartetheden og være medvirkende til fejl i forhold til vurdering af hvor start og slut af Q og T tak var. Det gjorde sig specielt gældende, når der opstod ændringer hestene imellem eller efter indgift af stof (fig. 12). Humant anvendes der computerprogrammer til måling af QT intervallerne. Det ville kunne nedbringe de manuelle fejl betydeligt og give en større sikkerhed på QT målingerne, hvis der eksisterede et lignende program til brug hos heste (Diamant *et al.*, 2010, Malik, 2010). Målingerne i forsøget blev foretaget af samme person i en sammenhængende periode under ens forudsætninger, hvilket nedbragte intern variation i QT målingerne mest muligt.

Reference og korrektionsværdi blev fundet ud fra 24 timers EKGerne. De fem QT interval målinger blev foretaget hver time, hvilket gav en god sikkerhed på værdierne. Ønskes der en større sikkerhed, kunne der tages flere målinger med. QT målingerne var underlagt et krav om at alle målinger lå i et interval med stabil puls ± 5 slag/min. Pulsen blev målt på ti RR intervaller, hvilket gav en lavere variation i QTlag (Larroude *et al.*, 2006). Der blev anvendt pulsværdier under 60 slag/min, hvilket gav et ensartet datasæt, og gav en hældningsværdi uden at skulle korrigere for den bifasiske regression, der skiller ved 60 slag/min hos hest (Pedersen *et al.*, 2013). Der blev derfor kun anvendt en korrektionsformel for alle data og derved blev data mere ensartet. Det var ikke muligt at lave QT målinger under 60 slag/min når hestene var i AF. QT målingerne blev derfor først foretaget efter hestene konverterede. Det gav en række manglende data for QT målingerne til tiderne 1 time og 2 timer efter behandling hos de heste, der ikke konverterede. Begrænsningen i puls medførte en manglende viden om QT intervallets forlængelse ved pulsværdier over 60 slag/min. Det kunne være en relevant viden, når de afprøvede stoffer ønskes til brug ved behandling af AF, hvor pulsen til tider er højere. Målingerne blev yderligere begrænset af, at de ikke kunne foretages under pacing. Ved pacing kunne impulsen komme fra et andet sted i hjertet end normalt, da det ikke vides hvor paceren var placeret i atriet. Det var derved ikke muligt at indsamle QT målinger imellem dosis eller 20 min og 40 min efter dosis 4. Det medførte nogle mangler i sammenligningsgrundlaget for de to forsøgsdele.

Det kunne overvejes, om det havde været mere repræsentativt at bruge samme dosis intervaller (to eller fire doser) i begge forsøg. Derved havde der været baggrund for

sammenligning mellem de to delforsøg, og hvordan behandlingerne reagerede i heste med og uden AF.

Tiderne for QT interval målingerne under forsøget blev valgt ud fra blodprøve indsamlingstidspunkterne. Blodprøverne ved begge forsøgsdele blev udtaget til senere undersøgelse for stofkoncentration i blodet ved forskellige tider, der ville kunne kobles med QT forlængelserne set på EKGerne. For en mere detaljeret forståelse for de eksakte forandringer i QT intervallet, burde der være foretaget QT interval målinger hver 20 min de første 4 timer og derefter hver time frem til 24- 36 timer efter sidste dosis stof var indgivet. Det underbygges af, at der var observeret signifikante QT forlængelser helt op til 20 timer efter sidste dosis.

Til de statistiske analyser blev det valgt at korrektionsformlen for QTc blev beregnet ud fra de 9 hestes 24 timers EKGer. Baggrund for valget var den større statistiske sikkerhed, der opnås ved brug af en større antal værdier. De enkelte hestes QT målinger var meget varierende, og der var stor variation mellem de enkelte linjer (fig. 16). Hestene havde alle på nær én, en signifikant forskel fra 0 i deres hældning (bilag, tabel 3). Den brune linje (hest 7) i figur 16 var ikke signifikant. Hest 7's EKG var generelt meget stabilt og med lille variation i QT intervallerne og puls over de 24 timer. Et alternativ til en fælles korrektion af QT intervallerne var en korrektion lavet på hver enkelt hests egne 24 timers QT intervaller. Det princip ville have medført en større sikkerhed på den enkelte hest egne værdier. Fejlkilden ved brug af denne type korrektion var, at heste under deres 24 timers EKG kunne give en række, for den hest, anormale værdier. Det ville udmønte sig i et falsk billede på alle de efterfølgende QTc værdier, hestens 24 timers datasæt bruges til at korrigere med. Ved at vælge en fælleskorrektion vil de individuelle forskelle blive udvisket til fordel for et mere ensartet datasæt.

Hestenes QTc fra 24 timers EKGerne blev anvendt som reference for sammenligning mellem de forskellige behandlinger med Ranolazin, Dofetilid og kombinationsbehandlingen. Det gav et større antal værdier og en statistisk større sikkerhed for at mindske variationen hestene imellem. Værdierne for før procedurerne kunne have været anvendt som referenceværdi. Det ville have givet en større sikkerhed på den enkelte hest på den dag, men gav også en mindre referencestørrelse. Der blev ikke i nogen af forsøgene fundet en signifikant forskel mellem før procedure og referenceværdierne. Derfor antages det at referenceværdien, på trods af den individuelle store spredning (fig. 16), gav det statistiske stærkeste sammenligningsgrundlag.

6.2. Dofetilid

Dofetilid konverterede alle heste i AF behandlingsgruppen (100%) inden fjerde indgift (bilag, tabel 8). Dofetilids konverteringsrate humant var i forsøg mellem 6,1% og 29,9 % (Singh *et al.*, 2000). Forsøgshestene konverterede alle fra AF til sinusrytme af sig selv indenfor 4½ time ved kontrol. Konverteringsraten på 100% hos AF behandlingsgruppen kunne skyldes, at forsøget blev foretaget på raske heste med eksperimentalt pacing induceret AF. En induceret AF ville være mere organiseret lige efter eksperimental induktion. Hvis AF opretholdes igennem en længere periode, kunne der forekomme elektrisk remodellering og derved øges stabiliteten af AF (Wijffels *et al.*, 1995). Humant anvendes Dofetilid mest til patienter med persisterende AF (Banchs *et al.*, 2008). Det kunne ikke efterbevises i forsøget, da det var svært at efterligne en persisterende AF hos hest ved burst pacing.

Dofetilids blokering af I_{Kr} , forlænger aktionspotentialt og påvirker den effektive refraktære periode i atrierne og ventriklerne (Workman *et al.*, 2011). Dofetilid havde i resultaterne for begge forsøgsgrupper en signifikant forlængende effekt på QT intervallet. QT interval forlængelserne hos kontrolgruppen var fra 20 min efter dosis 2 til 2 timer efter dosis 2. Den humane maximale plasma koncentration opnås 2 timer efter indgift af Dofetilid og kunne forklare den QT forlængelse, der var i forsøget til de pågældende tider (Benson & Powless, 2003). Hos AF behandlingsgruppen fandtes først en signifikant forlængelse ved tiden 10 timer efter dosis 4. Det har ikke været muligt at finde referencer, der beskrev en lignende forskel mellem brug af Dofetilid hos patienter med og uden AF. Der kan spekuleres i, om forskellen mellem kontrolgruppen og AF behandlingsgruppen kunne skyldes den påvirkning AF havde på aktionspotentialt og den effektive refraktære periode. Da AF opretholdes af en forkortet refraktær periode, kunne det give en forhaling af blokaden af I_{Kr} , så QT interval forlængelsen først opstod senere. Dofetilide kunne i humane forsøg skabe en dosisafhængig forlængelse af QT interval, uden at påvirke PR interval eller QRS komplekset (Patel *et al.*, 2011). Det blev i kontrolforsøget observeret, at den signifikante forlængelse af QT intervallet opstod 20 min efter anden dosis Dofetilid. Første dosis Dofetilid havde ikke forlængende effekt på QT intervallet. Hestene i forsøget viste en mulig dosisafhængig forlængelse af QT intervallet, svarende til det der blev observeret humant.

Forlængelsen af QT intervallet i forsøgene med Dofetilid kunne tillægges ændringer i T takkens morfologi. Ændringer af T takkens morfologi ved indgift af Dofetilid er også beskrevet i kaninhjarter (Roche *et al.*, 2010). Heste med positiv T tak før proceduren fik en bifasisk T tak efter indgift med Dofetilid (fig. 22). Heste med bifasisk T tak før proceduren fik

en mere negativ T tak efter indgift af Dofetilid. De T tak morfologiske ændringer kunne ikke tillægges forøgelser i puls hos hestene efter behandlingerne. Hestens T tak kan være meget varierende fra individ til individ og ændres let ved pulsstigninger og påvirkes bl.a. af hestes træningstilstand og alder (Steel *et al.*, 1976, Evans & Polglaze., 1994, Ayala *et al.*, 1999, Sabev *et al.*, 2010,). Under humane forsøg forekom der også ændringer i T taks morfologien ved indgift med I_{Kr} blokerende stoffer (Tjaderborn *et al.*, 2010).

Det ville i forbindelse med de T taks morfologiske ændringer være interessant at undersøge $T_{peak}-T_{end}$ forholdet, samt $T_{peak1}-T_{peak2}$ forholdet. Humant havde $T_{peak}-T_{end}$ forlængelser i det forlængede QT interval en positiv korrelation med øget risiko for torsades de points (Topilski *et al.*, 2007).

Det blev ikke undersøgt i forsøgene, om der skete en forlængelse af QRS komplekset, som kunne medvirke til forlængelsen i QT intervallet. Det har under nogle forsøg været vist, at QRS komplekset kunne forlænges og være medvirkende til en QT forlængelse indenfor 2 timer efter Dofetilid indgift (Brumberg *et al.*, 2013). Det ville være værd at undersøge yderligere hos hest for at finde, om Dofetilid påvirker den ventrikulære depolarisering.

Endvidere kunne man overveje at undersøge PR længden for at undersøge om Dofetilid i hest nedsætter hastigheden gennem AV knuden. I humane forsøg havde Dofetilid ikke nogen effekt på PR længden (Patel *et al.*, 2011).

Dofetilid i hest gav en mulig dosisafhængig QT forlængelse, der havde nogle overensstemmelser med humane QT forlængelse.

6.3. Ranolazin

Ranolazin konverterede alle heste (100%) i AF behandlingsgruppen til sinusrytme. Den hest der konverterede senest var 16 min efter indgift med dosis 4 (bilag, tabel 8). I et forsøg med hundehjerter var konverteringsraten 67% (Burashnikov *et al.*, 2012). Ved brug af en høj dosis Ranolazin PO ved paroxysmal eller nystartet AF (max. 48 timer) lå konverteringsraten humant på 72%, hvor forsøgspersonerne konverterede indenfor 6 timer (Murdock *et al.*, 2009). Forsøgets høje konverteringsrate kunne skyldes, som for Dofetilid, at der i forsøget blev anvendt heste med raske hjerter, der fik 15 min pacing til induktion af AF og ikke naturlig AF. Atrieflimmer ville derfor ikke være så stabil, som havde den været af længere varighed (Wijffels *et al.*, 1995).

Ranolazin blokerer flere ionkanaler I_{Na} , I_{Kr} , I_{Ks} og L-type I_{Ca} kanaler (Antzelevitch *et al.*, 2004, Schram *et al.*, 2004, Ravens, 2010,). I kontrolgruppen var der en signifikant forlængelse af QT intervallet 20 min efter dosis 2. AF behandlingsgruppen viste ikke nogen signifikant forlængelse af QT intervallets længde. Ranolazin gav i forsøg en dosisafhængig effekt på forlængelsen af aktionspotentialer og en moderat forlængelse af QT intervallet humant (Antzelevitch *et al.*, 2004). I kontrolforsøget var der ingen QT forlængelse efter første dosis, men først en kortvarig forlængelse af QT intervallet efter anden dosis. Der blev ikke målt 20 min efter dosis 4 i AF behandlingsgruppen, det var derfor ikke muligt at sammenligne. I_{Na} kanalerne aktiveres først ved lavere dosis end I_{Kr} , der først aktiveres ved højere dosis (Dhalla *et al.*, 2009). I forsøget var forlængelsen af QT intervallet først signifikant efter anden dosis, og det er derved muligt, at forlængelsen i højere grad skyldes blokaden af I_{Kr} end en blokade af I_{Na} . I_{Kr} kanalerne gav et forlænget aktionspotentialer, mens hæmningen af I_{Ks} og L-type Ca^{2+} kanalerne forkortede aktionspotentialer (Vaishnav *et al.*, 2014). Denne forlængelse efterfulgt af en forkortelse af aktionspotentialer kunne forklare, at der kun var en kortvarig signifikant forlængelse af QT intervallet ved brug af Ranolazin. I forsøg på anæstiserede grise blev det fundet, at Ranolazin sænker ledningshastigheden og forlænger atriernes effektive refraktære periode to gange mere end i ventriklen (Kumar *et al.*, 2009). Derfor ville ventriklernes depolarisering og repolarisering ikke påvirkes i samme grad som ved Dofetilid. Der blev ikke observeret nogen ændringer i EKGets morfologi.

Ranolazin gav en mere moderat forlængelse af QT intervallet end den observeret efter Dofetilid, og AF behandlingsgruppen viste ingen signifikant forlængelse af QT intervallet.

6.4. Kombinationsbehandling

I AF behandlingsgruppen konverterede 5 ud af 6 heste inden for forsøgstiden 30 min efter dosis 4 (bilag, tabel 8). Den sidste hest konverterede efterfølgende i boksen. Det gav en konverteringsrate på 83,3%. Der eksisterer ikke litteratur på Dofetilid og Ranolazin i kombinationsbehandling. I forsøg med kombinationsbehandling af andre klasse III antiarytmisk lægemidler og Ranolazin, blev der fundet god synergetisk effekt ved lavere dosis, end når stofferne blev administreret hver for sig (Burashnikov *et al.*, 2010, Frommeyer *et al.*, 2012, Frommeyer *et al.*, 2013). Resultaterne for AF behandlingsgruppen viste en signifikant kortere varighed af AF hos hestene ved indgift med kombinationsbehandling end ved kontrolbehandling. Resultatet var underlagt et forbehold, da det inkluderede den hest der konverterede i boksen og de 2 heste der konverterede tidligt på saltvand. I forsøget konverterede 4 af de 5 heste efter første dosis indgift af kombinationsbehandling, 1 hest efter

anden dosis indgift af Ranolazin. Det kunne tyde på en synergetisk effekt, hvor I_{Kr} blokade forøges ved samtidig indgift af Dofetilid og Ranolazin, sammen med Ranolazins blokade af I_{Na} . Hvorved der kunne ske en forlængelse af aktionspotentialiet og den effektive refraktære periode tidligere. Den kortere AF periode hos AF behandlingsgruppen kunne forklares ud fra Ranolazins evne til at forsinke repolariseringen og øge den effektiv refraktære periode uden at forlænge aktionspotentialiet (Frommeyer *et al.*, 2012). Når Dofetilid blev administreret i lav dosis, ville I_{Ks} og L-type Ca^{2+} blokaden af ionkanalerne fra Ranolazin nedsætte I_{Kr} forlængende virkning på aktionspotentialiet. Der blev opnået en synergetisk forøget effektiv refraktær periode, der ved lavere dosis kunne konvertere hestene fra AF til sinusrytme.

Resultaterne for QT forlængelserne i kontrolforsøget og AF behandlingsforsøget viste en sammenhæng med resultaterne for de tre klasse III lægemidler Amiodaron, Dronedaron og Sotalol, der i kombinationsbehandling med Ranolazin fik en yderligere forlængelse af QT intervallet end administreret enkelvis (Frommeyer *et al.*, 2012). Hos kontrolgruppen var der en tidligere signifikant forlængelse af QT komplekset 20 min efter første dosis kombinationsbehandling. Ved kontrolforsøg med Dofetilid og Ranolazin enkeltvis var der først en signifikant forlængelse af QT komplekset 20 min efter dosis 2. Det kunne tyde på, at Ranolazin og Dofetilid potenserede hinanden og gav en dosisafhængig forlængelse af QT intervallet som beskrevet for lægemidlerne enkeltvist (Antzelevitch *et al.*, 2004, Patel *et al.*, 2011). Det kunne antages deres effekt på blokaden af I_{Kr} forstærkes og forlængelsen af QT intervallet derved indtrådte hurtigere. Effekten på de blokerede I_{Kr} kanaler ved indgift af begge lægemidler kunne skabe en forlængende effekt på aktionspotentialiet i ventriklerne og derved skabe en hurtigere signifikant forlængelse af QT intervallet. Varigheden af QT intervallets forlængelse var også længere end for Dofetilid i kontrolforsøget. Statistisk var der ikke en signifikant forskel mellem længden af QT intervallet ved Dofetilid og ved kombinationsbehandlingen. Ranolazin var i forsøget ikke i stand til at nedsætte Dofetilids forlængelse af QT intervallet. Forsøget viste derimod en tidligere og længerevarende QT interval forlængelse ved brug af Dofetilid og Ranolazin. Resultaterne fra AF behandlingsgruppen gav et lignende billede, her skete den signifikante forlængelse af QT intervallet også tidligere ved kombinationsbehandling end for Dofetilid. Der kunne ikke findes litteratur til at underbygge dette, men en mulig forklaring kunne være, at AF forkortede refraktær perioden og aktionspotentialiet. Det ville derfor tage længere tid før QT intervallet blev forlænget i en grad, hvor det var signifikant.

Forlængelsen af QT komplekset kunne, som for Dofetilid, skyldes en ændring i morfologien på T takken, der under kombinationsbehandlingen fik de samme morfologiske ændringer som beskrevet under Dofetilid (fig. 23).

Resultaterne for kombinationsbehandlingen med Dofetilid og Ranolazin var ikke i overensstemmelse med de hypoteser der dannede baggrund for forsøget. Der kunne ikke konstateres en mere moderat forlængelse af QT intervallet ved behandling med Dofetilid og Ranolazin i kombination. Der blev derimod observeret en tidligere og længerevarende forlængelse af QT komplekset end ved administration af stofferne separat. Det kunne ikke eftervises, at kombinationsbehandlingen kunne give en mindre forlængelse af QT intervallet i forhold til Dofetilid.

Det blev i forsøget eftervist, at kombinationsbehandlingen havde en signifikant forkortende effekt på den tid hestene var i AF, og det kan dermed bekræftes, at kombinationen af Ranolazin og Dofetilid giver en hurtigere konvertering af AF tilbage til sinusrytme.

7. Konklusion

Hestene i forsøget udviste god tolerance og ingen kliniske bivirkninger ved IV administration af under af Dofetilid, Ranolazin og kombinationen af Ranolazin og Dofetilid. 100 % af forsøgshestene konverterede på Ranolazin og Dofetilid givet enkeltvist. 83,3 % af forsøgshestene konverterede på kombinationsbehandlingen med Dofetilid og Ranolazin. Dofetilid havde en signifikant forlængende effekt på QT intervallet, der var sammenlignelig med den der ses humant. Ranolazin havde en kortvarig signifikant QT forlængende effekt. Kombinationsbehandlingen med Dofetilid og Ranolazin havde en længerevarende signifikant forlængende effekt på QT intervallet. Ranolazin nedsatte ikke den QT forlængende effekt af Dofetilid signifikant i forsøget. Kombinationsbehandlingen med Dofetilid og Ranolazin udgjorde en effektiv behandlingsstrategi for pacing induceret atrieflimmer hos hest uden kliniske bivirkninger, men med udtalte QT interval forlængelser forbundet med kombinationsbehandlingen.

8. Perspektivering

Forsøget og den tilhørende opgave var lavet som del af et Ph.D. projekt. Studiet undersøgte AF efter Dofetilid, Ranolazin og kombinationsbehandlingen med begge stoffer, og om hjertet var beskyttet mod AF efter behandlingerne. Ud over dette blev QT intervallet på EKG'erne også undersøgt.

En gentagelse af forsøget med naturlige AF heste ville være en relevant forlængelse for videre undersøgelse af Dofetilid, Ranolazin og kombinationsbehandlingen. Andre behandlingsformer har virket på pacing induceret AF, men havde ingen virkning på heste med naturligt AF, heriblandt Flecanid (van Loon *et al.*, 2004, Birettoni *et al.*, 2007). Det kunne være relevant at udvælge to grupper heste, en gruppe med paroxysmal AF og en gruppe med persisterende AF, for at undersøge kombinationsbehandlingsens virkning på AF af forskellig varighed. Dofetilid administreret alene havde bedst effekt overfor persisterende AF humant (Banchs *et al.*, 2008), mens Ranolazin havde en god effekt mod paroxysmal AF humant (Murdock *et al.*, 2008). Det kunne derfor være et interessant studie, at undersøge om kombinationsbehandlingen med Dofetilid og Ranolazin ville have en god virkning over for begge former for AF eller kun én af dem.

Det ville være interessant at kortlægge hvilke ionkanaler Dofetilid og Ranolazin blokerer, og i hvilken grad ved brug af kombinationsbehandlingen hos hest. Det kunne måske belyse den effekt der blev observeret i forsøget. I forsøget var der en mulig potenserende effekt mellem kombinationsbehandlingen med Ranolazin og Dofetilid indgivet ved lave doser. Det ville være relevant at undersøge om denne effekt skyldes synergetisk blokade af I_{Kr} . Man kunne måske udtage hjerter fra kombinationsbehandlede heste og undersøge I_{Kr} kanalerne via whole-cell og cell-attached patch-clamp teknik.

Undersøgelse af kombinationsbehandlingsens virkning på aktionspotentialer og den effektive refraktære periode ville være interessant. Kunne Dofetilids aktionspotentialerforlængelse nedsættes af interaktionen med Ranolazin. Hertil kunne de ERP målinger (effektive refraktær periode målinger), der sideløbende blev foretaget under forsøget vise, om der skete en ændring før og efter indgift med Ranolazin, Dofetilid og kombinationsbehandlingen.

Generelt ville et studie af dosisforhold for kombinationsbehandlingen være relevant, for at nedbringe den forlængende virkning af QT intervallet. Hvis kombinationsbehandlingen skulle bruges, ville det være nødvendigt at finde den dosis sammenhæng mellem Dofetilid og Ranolazin, der gav de højeste konverteringsrater og laveste påvirkning af QT intervallet.

Det kunne i forlængelse af nogle fund i forsøget være interessant at udføre et sammenligningsstudie mellem heste i naturlig AF, heste i pacing induceret AF og heste i sinusrytme behandlet med Dofetilid, Ranolazin eller kombinationsbehandlingen. Forsøgsresultaterne gav en indikation om, at stofferne påvirkede forlængelsen af QT intervaller til senere tider ved AF, end når hestene var i sinusrytme. Det kunne være interessant om dette gør sig gældende ved heste i naturligt AF også, samt om det var gældende for flere behandlingsstrategier.

I forsøget kunne Ranolazin konvertere hestene fra AF til sinusrytme uden at påvirke QT intervallet. Fremadrettet kunne Ranolazin kombineret med andre klasse III antiarytmiske stoffer, som Amidoron, Donderon og Solitolol, afprøves på hest. Under forsøg med kombinationsbehandlinger på kaninhjarter, var der en positiv synergetisk effekt på konvertering og en nedsættende effekt på forlængelsen af QT intervallet (Frommeyer *et al.*, 2012, Frommeyer *et al.*, 2013). Hvis det kunne eftervises på heste med induceret og naturlig AF, ville det måske udgøre en fremtidig behandlingsstrategi.

Hestene i forsøget reagerede ikke med nogle kliniske bivirkninger på trods af signifikante QT interval forlængelser forårsaget af behandling med Dofetilid og kombinationsbehandlingen. Det kunne overvejes, om heste havde en højere tolerance overfor lægemiddelinduceret QT forlængelser end den fundet humant. Det ville åbne op for brugen af en række lægemidler, der pga. deres QT forlængende effekt ikke anvendes humant, men kunne anvendes til heste med AF. Der skulle først udføres en række yderligere studier på indflydelsen af QT interval forlængelser hos heste med naturlig AF, inden man begyndte at anvende QT forlængende antiarytmiske lægemidler på hest. Hestene i forsøget havde alle et rask hjerte, det kunne herved være medvirkende til de manglende kliniske bivirkninger observeret ved QT forlængelserne under forsøget.

Der blev i forsøget observeret en række ligheder mellem Dofetilids QT forlængende virkning, og den der observeredes ved humane studier. Der var også vist en dosisafhængig forlængelse hos kontrolgruppen ved indgift med Ranolazin, der kunne minde om den fundet humant. Derfor var der grundlag for en mulig brug af heste som modeldyr for Dofetilids og Ranolazins effekt på QT intervallet. Der skulle forskes yderligere i behandlingsformer, der bruges humant, for skabelsen af et bedre sammenligningsgrundlag til hest. Ved opbyggelse af et stort sammenligningsgrundlag på heste med naturlig AF og mennesker behandlet med samme lægemiddelmiddel. Ville de reaktioner der skete ved brug af forskellige klasser af

antiarytmika, der påvirker de enkelt ionkanaler kendes. Basalforskning med kortlægning af ionkanaler og blokade af forskellig ionkanaler med kendt virkning hos mennesker, ville udbygge viden om, hvordan blokering af stofferne udføres i hest og menneske. Denne viden kunne danne grundlag for, om de samme ionkanaler påvirkes i samme grad equint som humant.

9. References

- Abildskov J. A., Millar K., Burgess M. J. (1971).** Atrial fibrillation. *Am J Cardiol* **28**, 263-267.
- Alessi R., Nusynowitz M., Abildskov J. A., Moe G. K. (1958).** Nonuniform distribution of vagal effects on the atrial refractory period. *Am J Physiol* **194**, 406-410.
- Al-Khatib S. M., LaPointe N. M., Kramer J. M., Califf R. M. (2003).** What clinicians should know about the QT interval. *JAMA* **289**, 2120-2127.
- Allessie M. A., Bonke F. I., Schopman F. J. (1977).** Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. III. the "leading circle" concept: A new model of circus movement in cardiac tissue without the involvement of an anatomical obstacle. *Circ Res* **41**, 9-18.
- Allessie M. A., Bonke F. I., Schopman F. J. (1976).** Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. II. the role of nonuniform recovery of excitability in the occurrence of unidirectional block, as studied with multiple microelectrodes. *Circ Res* **39**, 168-177.
- Antzelevitch C. & Burashnikov A. (2009).** Atrial-selective sodium channel block as a novel strategy for the management of atrial fibrillation. *J Electrocardiol* **42**, 543-548.
- Antzelevitch C., Belardinelli L., Wu L., Fraser H., Zygmunt A. C., Burashnikov A., Di Diego J. M., Fish J. M., Cordeiro J. M. & other authors. (2004).** Electrophysiologic properties and antiarrhythmic actions of a novel antianginal agent. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* **9**, S65-83.
- Ayala I., Gutierrez C., Benedito J. L., Hernandez J., Castillo C., Alonso M. L., Miranda M., Montes A. (1999).** Morphology and amplitude values of the P and T waves in the electrocardiograms of spanish-bred horses of different ages. *Journal of Veterinary Medicine. Series A* **46**, 225-230. 20 ref.
- Banchs J. E., Wolbrette D. L., Samii S. M., Penny-Peterson E. D., Patel P. P., Young S. K., Gonzalez M. D., Naccarelli G. V. (2008).** Efficacy and safety of dofetilide in patients with atrial fibrillation and atrial flutter. *J Interv Card Electrophysiol* **23**, 111-115.
- Benson L. M. & Powless D. (2003).** Dofetilide and atrial fibrillation. *Am J Nurs* **103**, 64AA-64.
- Bers D. M. (2002).** Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* **415**, 198-205.
- Bertone J. J. & Wingfield W. E. (1987).** Atrial fibrillation in horses. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* **9**, 763-771. 69 ref.
- Biretoni F., Porciello F., Rishniw M., della Rocca G., Di Salvo A., Sgorbini M. (2007).** Treatment of chronic atrial fibrillation in the horse with flecainide: Personal observation. *Vet Res Commun* **31**, 273-275.
- Blissitt K. J. (1999).** Diagnosis and treatment of atrial fibrillation. *Equine Veterinary Education* **11**, 11-19. 32 ref.
- Brumberg G., Gera N., Pray C., Adelstein E., Barrington W., Bazaz R., Mendenhall G. S., Nemec J., Voigt A. & other authors. (2013).** Frequency of toxicity with chemical conversion of atrial fibrillation with dofetilide. *Am J Cardiol* **112**, 505-508.
- Burashnikov A., Belardinelli L., Antzelevitch C. (2012).** Atrial-selective sodium channel block strategy to suppress atrial fibrillation: Ranolazine versus propafenone. *J Pharmacol Exp Ther* **340**, 161-168.
- Burashnikov A., Sicouri S., Di Diego J. M., Belardinelli L., Antzelevitch C. (2010).** Synergistic effect of the combination of ranolazine and dronedarone to suppress atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* **56**, 1216-1224.

Comtois P., Kneller J., Nattel S. (2005). Of circles and spirals: Bridging the gap between the leading circle and spiral wave concepts of cardiac reentry. *Europace* **7**, 10-20.

Cunningham J. G. & Klein B. G. (2007). Textbook of Veterinary physiology, fourth edition edn. St, Louis: Saunders Elsevier.

Deem D. A. & Fregin G. F. (1982). Atrial fibrillation in horses: A review of 106 clinical cases, with consideration of prevalence, clinical signs, and prognosis. *J Am Vet Med Assoc* **180**, 261-265. 35 ref.

Desai M., Li L., Desta Z., Malik M., Flockhart D. (2003). Variability of heart rate correction methods for the QT interval. *Br J Clin Pharmacol* **55**, 511-517.

Dhalla A. K., Wang W. Q., Dow J., Shryock J. C., Belardinelli L., Bhandari A., Kloner R. A. (2009). Ranolazine, an antianginal agent, markedly reduces ventricular arrhythmias induced by ischemia and ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **297**, H1923-9.

Dhamoon A. S. & Jalife J. (2005). The inward rectifier current (IK1) controls cardiac excitability and is involved in arrhythmogenesis. *Heart Rhythm* **2**, 316-324.

Diamant U. B., Winbo A., Stattin E. L., Rydberg A., Kesek M., Jensen S. M. (2010). Two automatic QT algorithms compared with manual measurement in identification of long QT syndrome. *J Electrocardiol* **43**, 25-30.

Ehlert F. A., Goldberger J. J., Rosenthal J. E., Kadish A. H. (1992). Relation between QT and RR intervals during exercise testing in atrial fibrillation. *Am J Cardiol* **70**, 332-338.

Evans D. L. & Polglaze K. E. (1994). Relationships between electrocardiographic findings, racing performance and training in standardbred horses. *Aust Vet J* **71**, 375-378. 12 ref.

Finley M. R., Lillich J. D., Gilmour R. F., Jr., Freeman L. C. (2003). Structural and functional basis for the long QT syndrome: Relevance to veterinary patients. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **17**, 473-488. 234 ref.

Frommeyer G., Milberg P., Uphaus T., Kaiser D., Kaese S., Breithardt G., Eckardt L. (2013). Antiarrhythmic effect of ranolazine in combination with class III drugs in an experimental whole-heart model of atrial fibrillation. *Cardiovasc Ther* **31**, e63-71.

Frommeyer G., Kaiser D., Uphaus T., Kaese S., Osada N., Rajamani S., Belardinelli L., Breithardt G., Eckardt L., Milberg P. (2012). Effect of ranolazine on ventricular repolarization in class III antiarrhythmic drug-treated rabbits. *Heart Rhythm* **9**, 2051-2058.

Grunnet M. (2010). Repolarization of the cardiac action potential. does an increase in repolarization capacity constitute a new anti-arrhythmic principle?. *Acta Physiol (Oxf)* **198**, 1-48.

Hiraga A. & Kubo K. (1999). Two cases of paroxysmal atrial fibrillation during exercise in horses. *Equine Veterinary Education* **11**, 6-10. 13 ref.

Holmes J. R., Henigan M., Williams R. B., Witherington D. H. (1986). Paroxysmal atrial fibrillation in racehorses. *Equine Vet J* **18**, 37-42. 9 ref.

Hutton D. M. (2008). The importance of routine QT interval measurement in rhythm interpretation. *Dynamics* **19**, 29-33.

Jalife J. (2003). Rotors and spiral waves in atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* **14**, 776-780.

Jespersen T. (2011). Regulation and physiological function of na(v) 1.5 and KCNQ1 channels. *Acta Physiol (Oxf)* **202**, 1-26.

- Kumar K., Nearing B. D., Carvas M., Nascimento B. C., Acar M., Belardinelli L., Verrier R. L. (2009).** Ranolazine exerts potent effects on atrial electrical properties and abbreviates atrial fibrillation duration in the intact porcine heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* **20**, 796-802.
- Larroude C. E., Jensen B. T., Agner E., Toft E., Torp-Pedersen C., Wachtell K., Kanthers J. K. (2006).** Beat-to-beat QT dynamics in paroxysmal atrial fibrillation. *Heart Rhythm* **3**, 660-664.
- Loon G. v., Tavernier R., Duytschaever M., Fonteyne W., Deprez P., Jordaens L. (2000).** Pacing induced sustained atrial fibrillation in a pony. *Canadian Journal of Veterinary Research* **64**, 254-258. 18 ref.
- Malik M. (2010).** Optimum way to evaluate the quality of QT interval measurement in pharmaceutical studies. *J Electrocardiol* **43**, 84-86.
- Malik M., Farbom P., Batchvarov V., Hnatkova K., Camm A. J. (2002).** Relation between QT and RR intervals is highly individual among healthy subjects: Implications for heart rate correction of the QT interval. *Heart* **87**, 220-228.
- Manohar M. & Smetzer D. L. (1992).** Atrial fibrillation. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* **14**, 1327-1333. 6 ref.
- Marr C. M. & Bowen I. M. (2010).** Cardiology of the horse, second edn, Edited by Anonymous . Edinburgh. London. New york. Oxford. Philadelphia. st louis, sidney, toronto: Saunders Elsevier.
- Mehdirad A. A., Clem K. L., Love C. J., Nelson S. D., Schaal S. F. (1999).** Improved clinical efficacy of external cardioversion by fluoroscopic electrode positioning and comparison to internal cardioversion in patients with atrial fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol* **22**, 233-237.
- Moe G. K. & Abildskov J. A. (1959).** Atrial fibrillation as a self-sustaining arrhythmia independent of focal discharge. *Am Heart J* **58**, 59-70.
- Morris D. D. & Fregin G. F. (1982).** Atrial fibrillation in horses: Factors associated with response to quinidine sulfate in 77 clinical cases. *Cornell Vet* **72**, 339-349.
- Muir W. W., Reed S. M., McGuirk S. M. (1990).** Treatment of atrial fibrillation in horses by intravenous administration of quinidine. *J Am Vet Med Assoc* **197**, 1607-1610. 20 ref.
- Murdock D. K., Kersten M., Kaliebe J., Larrain G. (2009).** The use of oral ranolazine to convert new or paroxysmal atrial fibrillation: A review of experience with implications for possible "pill in the pocket" approach to atrial fibrillation. *Indian Pacing Electrophysiol J* **9**, 260-267.
- Murdock D. K., Overton N., Kersten M., Kaliebe J., Devecchi F. (2008).** The effect of ranolazine on maintaining sinus rhythm in patients with resistant atrial fibrillation. *Indian Pacing Electrophysiol J* **8**, 175-181.
- Nattel S. (2002).** New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature* **415**, 219-226.
- Nerbonne J. M. & Kass R. S. (2005).** Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiol Rev* **85**, 1205-1253.
- Ohmura H., Hiraga A., Takahashi T., Kai M., Jones J. H. (2003).** Risk factors for atrial fibrillation during racing in slow-finishing horses. *J Am Vet Med Assoc* **223**, 84-88. 19 ref.
- Ohmura H., Hiraga A., Aida H., Takahashi T., Nukada T. (2001).** Determination of oral dosage and pharmacokinetic analysis of flecainide in horses. *J Vet Med Sci* **63**, 511-514.
- Ohmura H., Nukada T., Mizuno Y., Yamaya Y., Nakayama T., Amada A. (2000).** Safe and efficacious dosage of flecainide acetate for treating equine atrial fibrillation. *J Vet Med Sci* **62**, 711-715.

- Patel C., Salahuddin M., Jones A., Patel A., Yan G. X., Kowey P. R. (2011).** Atrial fibrillation: Pharmacological therapy. *Curr Probl Cardiol* **36**, 87-120.
- Pedersen P. J. (2014):** Personlig meddelelse. Københavns universitet, det sundhedsvidenskabelige fakultet. University of Copenhagen. Dyr lægevej 100, bygning 1-05, kontor F103, 1870 Frederiksberg C. e-mail: Philip@sund.ku.dk.
- Pedersen P. J., Kanters J. K., Buhl R., Klaerke D. A. (2013).** Normal electrocardiographic QT interval in race-fit standardbred horses at rest and its rate dependence during exercise. *Journal of Veterinary Cardiology* **15**, 23-31.
- Ravens U. (2010).** Antiarrhythmic therapy in atrial fibrillation. *Pharmacol Ther* **128**, 129-145.
- Reed S. M., Bayly W. M., Sellon D. C. (2010).** Equine internal medicine, third edn. st. Louis: Saunders Elsevier.
- Reef V. B., Levitan C. W., Spencer P. A. (1988).** Factors affecting prognosis and conversion in equine atrial fibrillation. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **2**, 1-6. 32 ref.
- Reef V. B., Reimer J. M., Spencer P. A. (1995).** Treatment of atrial fibrillation in horses: New perspectives. *J Vet Intern Med* **9**, 57-67.
- Rensma P. L., Allessie M. A., Lammers W. J., Bonke F. I., Schalij M. J. (1988).** Length of excitation wave and susceptibility to reentrant atrial arrhythmias in normal conscious dogs. *Circ Res* **62**, 395-410.
- Risberg A. I. & McGuirk S. M. (2006).** Successful conversion of equine atrial fibrillation using oral flecainide. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **20**, 207-209.
- Roche M., Renauleaud C., Ballet V., Doubovetzky M., Guillon J. M. (2010).** The isolated rabbit heart and purkinje fibers as models for identifying proarrhythmic liability. *J Pharmacol Toxicol Methods* **61**, 238-250.
- Sabev S. P., Kanakov D. T., Petkov P. I. (2010).** Electrocardiographic response to exercise in race horses during the training season. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* **13**, 55-60. 24 ref.
- Schram G., Zhang L., Derakhchan K., Ehrlich J. R., Belardinelli L., Nattel S. (2004).** Ranolazine: Ion-channel-blocking actions and in vivo electrophysiological effects. *Br J Pharmacol* **142**, 1300-1308.
- Singh S., Zoble R. G., Yellen L., Brodsky M. A., Feld G. K., Berk M., Billing C. B., Jr. (2000).** Efficacy and safety of oral dofetilide in converting to and maintaining sinus rhythm in patients with chronic atrial fibrillation or atrial flutter: The symptomatic atrial fibrillation investigative research on dofetilide (SAFIRE-D) study. *Circulation* **102**, 2385-2390.
- Steel J. D., Hall M. C., Stewart G. A. (1976).** Cardiac monitoring during exercise tests in the horse. 3. changes in the electrocardiogram during and after exercises. *Aust Vet J* **52**, 6-10.
- Tfelt-Hansen J., Winkel B. G., Grunnet M., Jespersen T. (2010).** Inherited cardiac diseases caused by mutations in the Nav1.5 sodium channel. *J Cardiovasc Electrophysiol* **21**, 107-115.
- Tjaderborn M., Aunes-Jansson M., Samuelsson E., Frison L., Johansson S., Berggren A., Edvardsson N. (2010).** Prediction of drug-related morphological changes of the T wave. *Scand Cardiovasc J* **44**, 215-222.
- Topilski I., Rogowski O., Rosso R., Justo D., Copperman Y., Glikson M., Belhassen B., Hochenberg M., Viskin S. (2007).** The morphology of the QT interval predicts torsade de pointes during acquired bradyarrhythmias. *J Am Coll Cardiol* **49**, 320-328.
- Vaishnav A., Vaishnav A., Lokhandwala Y. (2014).** Refractory atrial fibrillation effectively treated with ranolazine. *Indian Heart J* **66**, 115-118.

- van Loon G., Blissitt K. J., Keen J. A., Young L. E. (2004).** Use of intravenous flecainide in horses with naturally-occurring atrial fibrillation. *Equine Vet J* **36**, 609-614.
- Van Wagoner D. R. & Nerbonne J. M. (2000).** Molecular basis of electrical remodeling in atrial fibrillation. *J Mol Cell Cardiol* **32**, 1101-1117.
- Vaughan Williams E. M. (1984).** A classification of antiarrhythmic actions reassessed after a decade of new drugs. *J Clin Pharmacol* **24**, 129-147.
- Verheyen T., Decloedt A., Clercq D. d., Deprez P., Sys S. U., Loon G. (2010).** Electrocardiography in horses - part 1: How to make a good recording. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr* **79**, 331-336. 15 ref.
- Viskin S. (1999).** Long QT syndromes and torsade de pointes. *Lancet* **354**, 1625-1633.
- Wang D. W., Kiyosue T., Sato T., Arita M. (1996).** Comparison of the effects of class I anti-arrhythmic drugs, cibenzoline, mexiletine and flecainide, on the delayed rectifier K⁺ current of guinea-pig ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* **28**, 893-903.
- Wijffels M. C., Kirchhof C. J., Dorland R., Allessie M. A. (1995).** Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* **92**, 1954-1968.
- Workman A. J., Smith G. L., Rankin A. C. (2011).** Mechanisms of termination and prevention of atrial fibrillation by drug therapy. *Pharmacol Ther* **131**, 221-241.
- Yang T., Snyders D., Roden D. M. (2001).** Drug block of I(kr): Model systems and relevance to human arrhythmias. *J Cardiovasc Pharmacol* **38**, 737-744.

10. Bilag

Tabel 1. QTc længde for de 9 heste, fra 24 timer EKGerne

Table format: XY		X	Group A									
		X Title	QTc for de 9 heste									
		X	A:Y1	A:Y2	A:Y3	A:Y4	A:Y5	A:Y6	A:Y7	A:Y8	A:Y9	
1	Title	1	433.325500	411.830700	430.898600	383.735400	352.203600	437.273300	383.293300	458.945600	459.938400	
2	Title	2	418.754100	450.529500	437.427000	400.410500	352.002400	447.402400	393.922700	455.267500	443.321800	
3	Title	3	422.690800	436.634200	420.294100	415.698600	368.312300	399.620000	392.838200	457.289200	440.365200	
4	Title	4	428.671400	435.838200	427.876900	395.473000	359.828000	416.871400	375.938400	448.538400	480.418600	
5	Title	5	423.124300	428.482500	433.820600	396.212100	405.580500	401.171100	391.489200	472.498600	477.565200	
6	Title	6	414.354900	453.554100	425.494900	405.938400	414.408100	433.800700	404.894100	443.778600	486.612100	
7	Title	7	404.653400	450.294100	421.471400	402.965200	409.954100	438.461800	405.186700	467.778300	480.378600	
8	Title	8	433.176200	439.712300	423.512100	409.996600	428.712100	416.811300	363.630100	439.137100	454.635700	
9	Title	9	452.139000	465.463400	412.799800	414.016800	446.967400	417.463700	408.524300	467.638200	456.220600	
10	Title	10	445.524300	451.929400	418.466300	445.388200	434.998800	410.693400	399.985500	499.661700	466.834200	
11	Title	11	442.663500	461.927500		430.298400	436.521300	436.482900	386.653400	492.485700	484.882900	
12	Title	12	424.535500	468.827000	419.785500	450.282900	433.234100	409.563700	412.602400	465.904900	496.689200	
13	Title	13	419.380000	460.869200	426.129700	414.035700	428.827000	450.533300	412.888000	478.867500		
14	Title	14	431.198800	477.002400	447.780500	415.820000	436.465200	420.786700	381.666400	442.786600	507.694900	
15	Title	15	435.160200	429.960200	455.863700	417.938400	439.198800	432.475800	407.665200	486.535200	494.200700	
16	Title	16	424.763100	452.802400	450.594200	426.378300	420.682900	437.929700	408.203600	484.218900	479.961200	
17	Title	17	439.725500	445.402400	427.053400	436.493300	455.468100	439.330200	396.598800	433.502100	489.898400	
18	Title	18	433.927500	447.385000	454.171100	400.692400	429.089200	432.986200	383.847100	469.639600	466.358600	
19	Title	19	416.158600	431.345600	431.071400	405.620000	453.392400	427.889200	403.268100	476.935200	474.565200	
20	Title	20	393.154800	453.821900	403.535400	427.167400	420.816700	432.293300	391.708100	467.682000	473.786700	
21	Title	21	428.639600	447.790000	414.871600	400.012100	423.237600	432.290800	405.321300	455.871600	472.647100	
22	Title	22	437.321400	457.960200	415.019000	422.390000	362.578600	427.598800	394.253500	447.730200	461.610500	
23	Title	23	434.399800	448.124300	428.616800	399.242600	381.827000	456.190000	388.108100	466.465200	458.438200	
24	Title	24	452.971200	453.037700	437.909100	414.598800	394.517600	434.561200	404.419000	443.861500	467.453500	

Y1-hest 1, Y2- hest 2, Y3- hest 3, Y4- hest 4, Y5-hest 5, Y6- hest 6, Y7- hest 7, Y8- hest 8, Y9- hest 9.

Værdierne vises som et gennemsnitligt QTc længde for hver time, kl 01.00- 24.00. De blanke felter illustrerer manglende data. Kopi af data fra GraphPad prism.

Tabel 2. Data for fælles lineær regression på de 9 hestes 24 timers EKGer

Linear reg.		A
		9 heste QTc før procedure
		Y
5	1/slope	14.36
6	95% Confidence Intervals	
7	Slope	0.06141 to 0.07783
8	Y-intercept when X=0.0	348.5 to 376.9
9	X-intercept when Y=0.0	-6136 to -4479
10	Goodness of Fit	
11	R square	0.2056
12	Sy.x	29.64
13	Is slope significantly non-zero?	
14	F	276.4
15	DFn, DFd	1.000, 1068
16	P value	< 0.0001
17	Deviation from zero?	Significant
18	Data	
19	Number of X values	1070
20	Maximum number of Y replicates	1
21	Total number of values	1070
22	Number of missing values	8560
23		
24	Equation	$Y = 0.06962 \cdot X + 362.7$

Slope- hældning. Y-intercept- skæring med Y-aksen. Hældning og skæring bliver brugt i korrektionsformlen for QTc. Kopi af data fra GraphPad prism.

Tabel 3. Data for variationen imellem hestens 24 timers EKG

Linear reg.		A	B	C	D	E	F	G	H	I
		QT Noble	QT Smilla	QT Sweet	QT Hirse	QT Red Line	QT Ingrid	QT Lindy	QT Sandman	QT Devil
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Best-fit values									
2	Slope	0.02304 ± 0.0034	0.05153 ± 0.0104	0.01689 ± 0.0043	0.03824 ± 0.0079	0.05331 ± 0.0164	0.09011 ± 0.0070	0.005179 ± 0.0048	0.04913 ± 0.0078	0.04551 ± 0.0102
3	Y-intercept when X=0.0	439.1 ± 5.977	408.3 ± 17.05	447.1 ± 7.249	403.4 ± 14.99	367.8 ± 25.75	326.3 ± 11.36	436.7 ± 8.289	429.5 ± 13.74	449.7 ± 19.83
4	X-intercept when Y=0.0	-19062	-7924	-26476	-10549	-6899	-3621	-84318	-8743	-9882
5	1/slope	43.41	19.41	59.21	26.15	18.76	11.10	193.1	20.36	21.97
6	95% Confidence Intervals									
7	Slope	0.01620 to 0.0298	0.03091 to 0.072	0.008325 to 0.02	0.02258 to 0.053	0.02075 to 0.085	0.07619 to 0.104	-0.004349 to 0.014	0.03360 to 0.0648	0.02522 to 0.0658
8	Y-intercept when X=0.0	427.3 to 450.9	374.5 to 442.1	432.8 to 461.5	373.7 to 433.1	316.8 to 418.8	303.8 to 348.8	420.3 to 453.1	402.3 to 456.7	410.4 to 489.0
9	X-intercept when Y=0.0	-27831 to -14306	-14298 to -5192	-55424 to -17007	-19173 to -6936	-20168 to -3692	-4576 to -2921	-infinity to -28581	-13587 to -6225	-19385 to -6239
10	Goodness of Fit									
11	R square	0.2740	0.1720	0.1191	0.1655	0.08182	0.5822	0.009728	0.2498	0.1489
12	Sy.x	8.784	14.82	9.070	15.65	32.34	14.80	7.928	17.44	16.88
13	Is slope significantly non-zero?									
14	F	44.54	24.50	15.28	23.40	10.52	164.4	1.159	39.29	19.77
15	DFn, DFd	1.000, 118.0	1.000, 118.0	1.000, 113.0	1.000, 118.0	1.000, 118.0	1.000, 118.0	1.000, 118.0	1.000, 118.0	1.000, 113.0
16	P value	< 0.0001	< 0.0001	0.0002	< 0.0001	0.0015	< 0.0001	0.2838	< 0.0001	< 0.0001
17	Deviation from zero?	Significant	Significant	Significant	Significant	Significant	Significant	Not Significant	Significant	Significant
18	Data									
19	Number of X values	120	120	115	120	120	120	120	120	115
20	Maximum number of Y replicates	1	1	1	1	1	1	1	1	1
21	Total number of values	120	120	115	120	120	120	120	120	115
22	Number of missing values	950	950	955	950	950	950	950	950	955

Slope- hældning, Y-intercept- skæring med Y-aksen. Hestene står i numerisk rækkefølge startende med hest 1 og sluttende med hest 9. Det ses at alle heste har en hældning signifikant forskellig fra 0, undtagen Lindy (hest 7). Kopi af data fra GraphPad prism.

Tabel 4. ANOVA analyse af Dofetilid for kontrorforsøg

Dunnett Multiple Comparisons Test

Control column: Baseline

If the value of q is greater than 2.718 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Baseline vs Før start	-27.083	1.629 ns	P>0.05
Baseline vs 20 min efter 1	-35.582	2.140 ns	P>0.05
Baseline vs 20 min efter 2	-90.574	5.448 **	P<0.01
Baseline vs 40 min	-69.710	4.193 **	P<0.01
Baseline vs 1 t	-73.087	4.396 **	P<0.01
Baseline vs 2 t	-80.881	4.865 **	P<0.01
Baseline vs 4 t	-36.321	2.185 ns	P>0.05
Baseline vs 10 t	-34.664	2.085 ns	P>0.05
Baseline vs 20 t	-22.935	1.380 ns	P>0.05

Difference	Mean Difference	Lower 95% CI	Upper 95% CI
Baseline - Før start	-27.083	-72.272	18.105
Baseline - 20 min efter 1	-35.582	-80.771	9.606
Baseline - 20 min efter 2	-90.574	-135.76	-45.385
Baseline - 40 min	-69.710	-114.90	-24.522
Baseline - 1 t	-73.087	-118.28	-27.898
Baseline - 2 t	-80.881	-126.07	-35.692
Baseline - 4 t	-36.321	-81.510	8.868
Baseline - 10 t	-34.664	-79.853	10.525
Baseline - 20 t	-22.935	-68.124	22.254

Ns- ikke signifikant, *-signifikant på P<0,05, **- signifikant på P<0,01. Kopi fra statistik lavet i GrapPad InStat.

Tabel 5. ANOVA analyse af Ranolazin for kontrorforsøg

Dunnett Multiple Comparisons Test

Control column: Baseline

If the value of q is greater than 2.718 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Baseline vs Før start	-34.665	2.036 ns	P>0.05
Baseline vs 20 min efter 1	-41.758	2.452 ns	P>0.05
Baseline vs 20 min efter 2	-46.459	2.728 *	P<0.05
Baseline vs 40 min	-8.359	0.4909 ns	P>0.05
Baseline vs 1 t	-27.563	1.619 ns	P>0.05
Baseline vs 2 t	-31.843	1.870 ns	P>0.05
Baseline vs 4 t	-26.291	1.544 ns	P>0.05
Baseline vs 10 t	-38.268	2.247 ns	P>0.05
Baseline vs 20 t	-38.392	2.254 ns	P>0.05

Difference	Mean Difference	Lower 95% CI	Upper 95% CI
Baseline - Før start	-34.665	-80.953	11.624
Baseline - 20 min efter 1	-41.758	-88.047	4.531
Baseline - 20 min efter 2	-46.459	-92.748	-0.1704
Baseline - 40 min	-8.359	-54.648	37.930
Baseline - 1 t	-27.563	-73.852	18.726
Baseline - 2 t	-31.843	-78.132	14.446
Baseline - 4 t	-26.291	-72.580	19.998
Baseline - 10 t	-38.268	-84.557	8.021
Baseline - 20 t	-38.392	-84.681	7.897

Ns- ikke signifikant, *-signifikant på P<0,05, **- signifikant på P<0,01. Kopi fra statistik lavet i GrapPad InStat.

Tabel 6. ANOVA analyse af kombinationsbehandling for kontrorforsøg

Dunnett Multiple Comparisons Test

Control column: Baseline

If the value of q is greater than 2.679 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Baseline vs Før start	-33.655	1.950 ns	P>0.05
Baseline vs 20 min efter 1	-70.885	4.108 **	P<0.01
Baseline vs 20 min efter 2	-105.33	6.104 **	P<0.01
Baseline vs 40 min	-72.221	4.185 **	P<0.01
Baseline vs 1 t	-87.557	5.074 **	P<0.01
Baseline vs 2 t	-74.785	4.334 **	P<0.01
Baseline vs 4 t	-50.037	2.900 *	P<0.05
Baseline vs 10 t	-38.296	1.816 ns	P>0.05

Difference	Mean Difference	Lower 95% CI	Upper 95% CI
Baseline - Før start	-33.655	-79.873	12.564
Baseline - 20 min efter 1	-70.885	-117.10	-24.666
Baseline - 20 min efter 2	-105.33	-151.55	-59.112
Baseline - 40 min	-72.221	-118.44	-26.002
Baseline - 1 t	-87.557	-133.77	-41.338
Baseline - 2 t	-74.785	-121.00	-28.567
Baseline - 4 t	-50.037	-96.256	-3.819
Baseline - 10 t	-38.296	-94.772	18.179

Ns- ikke signifikant, *-signifikant på P<0,05, **- signifikant på P<0,01. Kopi fra statistik lavet i GrapPad InStat.

Tabel 7. ANOVA analyse af saltvandskontrol for kontrorforsøg

Dunnett Multiple Comparisons Test

Control column: Baseline

If the value of q is greater than 2.678 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Baseline vs Før start	-2.409	0.1428 ns	P>0.05
Baseline vs 20 min efter 1	-24.438	1.449 ns	P>0.05
Baseline vs 20 min efter 2	-21.718	1.287 ns	P>0.05
Baseline vs 40 min	-30.475	1.807 ns	P>0.05
Baseline vs 1 t	-21.298	1.263 ns	P>0.05
Baseline vs 2 t	-23.578	1.398 ns	P>0.05
Baseline vs 4 t	-2.724	0.1615 ns	P>0.05
Baseline vs 10 t	-6.619	0.3924 ns	P>0.05

Difference	Mean Difference	Lower 95% CI	Upper 95% CI
Baseline - Før start	-2.409	-47.592	42.775
Baseline - 20 min efter 1	-24.438	-69.621	20.745
Baseline - 20 min efter 2	-21.718	-66.901	23.466
Baseline - 40 min	-30.475	-75.658	14.708
Baseline - 1 t	-21.298	-66.481	23.885
Baseline - 2 t	-23.578	-68.761	21.605
Baseline - 4 t	-2.724	-47.907	42.459
Baseline - 10 t	-6.619	-51.802	38.564

Ns- ikke signifikant, *-signifikant på $P < 0,05$, **- signifikant på $P < 0,01$. Kopi fra statistik lavet i GraphPad InStat.

Tabel 8. Atrieflimmer varighed for AF behandlingsforsøg

Hest	Kontrol/Saltvand	Dofetilide	Ranolazine	Kombination
Hest 4 (Hirse)	20 min 19sek (1min 33sek efter 1 dosis)	1t 21min 6sek (17min 11sek efter 3 dosis)	32min 42sek (17min 2sek efter 1 dosis)	36min 38sek (19min 6sek efter 1 dosis)
Hest 5 (Red Line)	2t 34min 2sek (1t 1min 36sek efter 4 dosis)	1t 23min 9sek (20min 36 sek efter 3 dosis)	1t 48min 57sek (16min 11 sek efter 4 dosis)	2t 8min 1sek (33min 55sek efter 4 dosis)
Hest 6 (Ingrid)	4t 23min 24sek (2t 52min 12sek efter 4 dosis)	25min 1 sek (8 min 0sek efter 1 dosis)	1t 7min 26sek (5min 44sek efter 3 dosis)	26min 33sek (8min 47sek efter 1 dosis)
Hest 7 (Lindy)	2t 31min 33sek (1t 49sek efter 4 dosis)	1t 7min 55sek (6min 44sek efter 3 dosis)	25min 45sek (9min 2sek efter 1 dosis)	23min 7sek (5min 1sek efter 1 dosis)
Hest 8 (Sandman)	3t 11min 37sek (1t 38min 44sek efter 4 dosis)	1t 13min 39sek (12min 26sek efter 3 dosis)	1t 28min 44sek (26min 42sek efter 3 dosis)	20min 36sek (1min 51sek efter 1 dosis)
Hest 9 (Devil)	20min 2sek (3min 38sek efter 1 dosis)	51min 7sek (13min 57sek efter 2 dosis)	55min 47sek (18min 14sek efter 2 dosis)	40 min 51sek (1min 44sek efter 2 dosis)

Øverste tid er tiden hesten har været i AF inden den konverterede til sinusrytme. Tiden i parentes er angivelsen af hvor lang tid efter hesten havde modtaget en af de fire doser den konverterede til sinusrytme.

Tabel 9. Atrieflimmer varighed for de forskellige behandlingsstrategier

Col. stats		A	B	C	D
		Kontrol/Saltvand	Dofetilid	Ranolazin	Kombinationsbehandling
		Y	Y	Y	Y
1	Number of values	6	6	6	6
2					
3	Minimum	20.00	25.00	26.00	21.00
4	25% Percentile	20.00	44.50	31.25	22.50
5	Median	152.5	71.00	61.50	32.00
6	75% Percentile	209.8	81.50	94.00	62.75
7	Maximum	263.0	83.00	109.0	128.0
8					
9	Mean	133.3	63.67	63.33	46.17
10	Std. Deviation	96.63	22.16	32.02	40.85
11	Std. Error of Mean	39.45	9.047	13.07	16.68
12					
13	Lower 95% CI of mean	31.93	40.41	29.73	3.294
14	Upper 95% CI of mean	234.7	86.92	96.93	89.04
15					
16	Sum	800.0	382.0	380.0	277.0

Værdierne er opført i min. Kopi af data fra GraphPad prism.

Tabel 10. ANOVA analyse af Dofetilid for AF behandlingsforsøg

Dunnett Multiple Comparisons Test

Control column: Baseline

If the value of q is greater than 2.591 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Baseline vs Før start	-21.249	1.361 ns	P>0.05
Baseline vs 1 t	-33.111	2.121 ns	P>0.05
Baseline vs 2t	-25.826	1.654 ns	P>0.05
Baseline vs 4t	-12.318	0.7889 ns	P>0.05
Baseline vs 10t	-49.165	3.149 *	P<0.05
Baseline vs 20t	-26.756	1.487 ns	P>0.05

Difference	Mean Difference	Lower 95% CI	Upper 95% CI
Baseline - Før start	-21.249	-61.709	19.211
Baseline - 1 t	-33.111	-73.571	7.348
Baseline - 2t	-25.826	-66.286	14.634
Baseline - 4t	-12.318	-52.778	28.142
Baseline - 10t	-49.165	-89.625	-8.705
Baseline - 20t	-26.756	-73.369	19.856

Ns- ikke signifikant, *-signifikant på P<0,05, **- signifikant på P<0,01. Kopi fra statistik lavet i GrapPad InStat.

Tabel 11. ANOVA analyse af Ranolazin for AF behandlingsforsøg

Dunnett Multiple Comparisons Test

Control column: Baseline

If the value of q is greater than 2.592 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Baseline vs Før start	-38.908	2.547 ns	P>0.05
Baseline vs 1 t	-21.704	1.009 ns	P>0.05
Baseline vs 2t	0.3583	0.02036 ns	P>0.05
Baseline vs 4t	-0.6756	0.04423 ns	P>0.05
Baseline vs 10t	-36.792	2.409 ns	P>0.05
Baseline vs 20t	-37.215	1.731 ns	P>0.05

Difference	Mean Difference	Lower 95% CI	Upper 95% CI
Baseline - Før start	-38.908	-78.490	0.6747
Baseline - 1 t	-21.704	-77.426	34.018
Baseline - 2t	0.3583	-45.243	45.960
Baseline - 4t	-0.6756	-40.258	38.907
Baseline - 10t	-36.792	-76.374	2.791
Baseline - 20t	-37.215	-92.937	18.507

Ns- ikke signifikant, *-signifikant på P<0,05, **- signifikant på P<0,01. Kopi fra statistik lavet i GrapPad InStat.

Tabel 12. ANOVA analyse af kombinationsbehandling for AF behandlingsforsøg

Dunnett Multiple Comparisons Test

Control column: Baseline

If the value of q is greater than 2.591 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Baseline vs Før start	-21.874	1.793 ns	P>0.05
Baseline vs 1 t	-29.184	1.703 ns	P>0.05
Baseline vs 2t	-13.451	1.009 ns	P>0.05
Baseline vs 4t	-20.901	1.713 ns	P>0.05
Baseline vs 10t	-37.692	2.827 *	P<0.05
Baseline vs 20t	-43.128	2.899 *	P<0.05

Difference	Mean Difference	Lower 95% CI	Upper 95% CI
Baseline - Før start	-21.874	-53.484	9.735
Baseline - 1 t	-29.184	-73.582	15.214
Baseline - 2t	-13.451	-47.999	21.097
Baseline - 4t	-20.901	-52.511	10.708
Baseline - 10t	-37.692	-72.240	-3.144
Baseline - 20t	-43.128	-81.666	-4.590

Ns- ikke signifikant, *-signifikant på P<0,05, **- signifikant på P<0,01. Kopi fra statistik lavet i GraphPad InStat.

Tabel 13. ANOVA analyse af kontrol for AF behandlingsforsøg

Dunnett Multiple Comparisons Test

Control column: Baseline

If the value of q is greater than 2.591 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Baseline vs Før start	-24.518	1.764 ns	P>0.05
Baseline vs 1 t	15.556	0.7967 ns	P>0.05
Baseline vs 2t	10.924	0.6446 ns	P>0.05
Baseline vs 4t	14.869	1.070 ns	P>0.05
Baseline vs 10t	-9.089	0.6538 ns	P>0.05
Baseline vs 20t	-41.769	2.465 ns	P>0.05

Difference	Mean Difference	Lower 95% CI	Upper 95% CI
Baseline - Før start	-24.518	-60.532	11.495
Baseline - 1 t	15.556	-35.028	66.140
Baseline - 2t	10.924	-32.983	54.831
Baseline - 4t	14.869	-21.145	50.883
Baseline - 10t	-9.089	-45.103	26.925
Baseline - 20t	-41.769	-85.676	2.139

Ns- ikke signifikant, *-signifikant på P<0,05, **- signifikant på P<0,01. Kopi fra statistik lavet i GraphPad InStat.