Maastricht University

# Cellular mechanisms of acquired torsades de pointes in the hypertrophied canine heart : the substrate and the trigger

Citation for published version (APA):

Volders, P. G. (1999). *Cellular mechanisms of acquired torsades de pointes in the hypertrophied canine heart : the substrate and the trigger*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. https://doi.org/10.26481/dis.19990702pv

**Document status and date:**
Published: 01/01/1999

**DOI:**
10.26481/dis.19990702pv

**Document Version:**
Publisher's PDF, also known as Version of record

**Please check the document version of this publication:**

• A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
• The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
• The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

Link to publication

**General rights**
Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

• Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
• You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
• You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the “Taverne” license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

**Take down policy**
If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 20 Apr. 2024

# Summary

Under normal circumstances, the rhythmic activity of the heart is controlled by electrical impulses that originate in the sinus node and travel through the atria and the atrioventricular node to the ventricles. Via the specialized conduction system of the ventricles (bundle of His, left and right bundle branches, and Purkinje fibers), the impulses are transferred to the ventricular muscle cells. Every heart beat is the result of the synchronized activation and consequent contraction of these cells in the left and right ventricular wall, followed by the recovery from electrical activation and the relaxation from contraction, respectively.

At the level of the single myocyte, electrical stimulation during diastole initiates the action potential. Various ion fluxes crossing the membrane are responsible for the depolarization and repolarization phases of the action potential. The depolarization (phase 0) is generated mainly by the influx of $Na^+$ and $Ca^{2+}$ ions, whereas the repolarization (phases 1 to 3) is determined by a large number of in- and outward currents, including inactivating $Na^+$ and $Ca^{2+}$ currents, various $K^+$ currents, $Na^+$-$Ca^{2+}$-exchange current, $Cl^-$ current and $Na^+$-$K^+$-pump current. The resting membrane potential (phase 4) is maintained by the concerted action of the so-called inward rectifier $K^+$ current, the $Na^+$-$K^+$-pump current, and (depending on the intracellular $Na^+$ and $Ca^{2+}$ concentrations) the $Na^+$-$Ca^{2+}$-exchange current. It is likely that also other currents contribute to the resting phase.

Contraction is initiated by the influx of $Ca^{2+}$ ions into the cell during the early phase of the action potential. This influx triggers the release of a much larger pool of $Ca^{2+}$ stored in the sarcoplasmic reticulum. The cytoplasmic $Ca^{2+}$ made available by this process (called '*$Ca^{2+}$-induced $Ca^{2+}$ release*') serves to activate the myofilaments causing contraction via the '*cross-bridge cycle*'. At the end of contraction, the majority of $Ca^{2+}$ ions is taken up again by the sarcoplasmic reticulum, whereas a small fraction is extruded from the cell interior by the $Na^+$-$Ca^{2+}$ exchanger.

Under circumstances of mechanical overload, such as during hypertension, myocardial infarction, valvular disease, idiopathic hypertrophic or dilated cardiomyopathy, and complete atrioventricular block, the heart employs a number of intrinsic and extrinsic mechanisms in an attempt to maintain a normal cardiac output. One of the manifestations of chronic overload is ventricular hypertrophy, but many other complex responses occur. The contractile performance of the heart may initially show a compensatory adaptation, but, dependent on the degree and duration of overload, this is often followed by the development of some form of pump failure. In part, these contractile alterations are reducible to (mal)adaptive changes of the myocardial $Ca^{2+}$ homeostasis.

With respect to electrophysiological alterations, consistent features observed in numerous animal models and patients with cardiac hypertrophy or failure are the prolongation of the ventricular action potential and accentuated regional differences in

action-potential durations. This may cause beat-to-beat variations of the QT interval on the electrocardiogram and latent or overt forms of acquired QT prolongation, both of which have been related to an increased risk of sudden cardiac death due to an enhanced susceptibility to ventricular tachyarrhythmias.

In the present thesis the cellular basis of acquired QT prolongation and enhanced susceptibility to the polymorphic ventricular tachyarrhythmia '*torsades de pointes*' is investigated in the dog with complete atrioventricular block of chronic duration. For this purpose, adult mongrel dogs were operated and their atrioventricular node irreversibly damaged. In the ensuing condition the conduction of electrical impulses through this node is interrupted, which causes independent beating of the atria and the ventricles. Furthermore, the heart rate drops to approximately 45 beats per minute and is fully dependent on impulse generation from the ventricles, which is intrinsically slow. As a result, the stroke volume during systole and the filling of the ventricles during diastole increase. This state of increased cardiac load causes hypertrophy of both the left and right ventricle.

**Chapter 1** comprises the **general introduction** to the thesis and a **historical overview of the congenital and acquired long-QT syndromes, and torsades de pointes**. It is described that the **ventricular arrhythmias of cardiac hypertrophy and failure** appear to be based partly on pathological action-potential prolongation and increased regional dispersion of repolarization, and thus resemble the long-QT syndromes. The dog model with complete atrioventricular block is introduced and the aims of the study are put forward. The meaning of '*The Substrate*' and '*The Trigger*' is explained.

In **Chapter 2** the **regional heterogeneity of the action-potential configuration and duration in the normal dog heart is described**. The new finding of action-potential differences between the left and right ventricular midmyocardium is further investigated in voltage-clamp studies, and appears to be attributable to differences in $K^+$ currents. This means that electrical remodeling of the ventricles during cardiac overload starts from uneven action-potential characteristics, which must be taken into account to explain arrhythmogenesis under these circumstances.

In **Chapter 3** the **cellular basis of biventricular hypertrophy and arrhythmogenesis in the dog with chronic complete atrioventricular block** is examined. Ventricular enlargement is the result of cellular hypertrophy of both the left and right ventricular myocytes. In this animal model the interventricular differences of action-potential duration (known from control hearts) are exaggerated, predominantly by a pronounced prolongation of the left ventricular action potential. Midmyocardial myocytes from both ventricles exhibit an abnormal response to class III antiarrhythmic agents with much larger increases of the action-potential duration and a higher incidence of early afterdepolarizations than control cells. The data indicate that ventricular repolarization in chronic complete atrioventricular block is intrinsically weak and may predispose to class III-dependent torsades de pointes in vivo.

It is outlined in **Chapter 4** that **downregulation of certain $K^+$ currents contributes to the repolarization abnormalities in these dogs**. In left and right midmyocar-

dial myocytes, the slowly activating component of the delayed rectifier $K^+$ current, which constitutes a significant fraction of the outward current underlying normal ventricular repolarization, shows markedly lower amplitudes. Furthermore, in the right ventricular cells the rapidly activating component of the delayed rectifier $K^+$ current is also decreased. Unlike other animal models and patients with cardiac hypertrophy or failure the transient outward $K^+$ current is not altered. Thus, the ionic basis of acquired QT prolongation in dogs with chronic complete atrioventricular block resembles to some extent the $K^+$-current defects known for some of the human congenital long QT syndromes.

**A detailed description of the cardiac contractile performance and cellular $Ca^{2+}$ handling in chronic complete atrioventricular block** is given in **Chapter 5**. Contractile function in vivo is enhanced, in particular at the slow idioventricular rate. Likewise, cell contraction and $Ca^{2+}$ release from the sarcoplasmic reticulum in single left and right midmyocardial myocytes are enhanced at slow stimulation frequencies. Whereas $Ca^{2+}$ influx through L-type $Ca^{2+}$ channels is unchanged, $Ca^{2+}$ influx via reverse-mode $Na^+$-$Ca^{2+}$ exchange is significantly increased and contributes to cellular $Ca^{2+}$ loading, but also to $Ca^{2+}$ overload. Inward-mode $Na^+$-$Ca^{2+}$-exchange currents are increased in left (but not right) ventricular cells, which, in response to the larger $Ca^{2+}$ transients, may cause sufficient inward current to impair a fast repolarization. Therefore, the upregulation of $Na^+$-$Ca^{2+}$ exchange may improve contractile adaptation to chronic complete atrioventricular block, but at the same time promote proarrhythmia by increasing regional dispersion of repolarization and increasing the propensity to $Ca^{2+}$ overload and spontaneous $Ca^{2+}$ release from the sarcoplasmic reticulum.

In **Chapter 6** the **cellular arrhythmogenic consequences of spontaneous $Ca^{2+}$ release from the sarcoplasmic reticulum are investigated in normal canine ventricular myocytes.** $Ca^{2+}$ overload is induced by low concentrations of isoproterenol, which stimulates the β1- and β2-adrenergic receptors and their intracellular cascades leading to enhanced L-type $Ca^{2+}$ currents and enhanced $Ca^{2+}$ uptake into the sarcoplasmic reticulum. Based on contraction measurements it is concluded that spontaneous $Ca^{2+}$ release can occur during the action potential and after completion of the repolarization, corresponding with early and delayed afterdepolarizations, respectively. These membrane responses can trigger new action potentials via various mechanisms. The results indicate that a $Ca^{2+}$-activated membrane current is necessary for both types of afterdepolarizations. The importance of these mechanisms lies in their capacity to generate the extrasystolic activity that may initiate torsades de pointes under circumstances of increased sympathetic activation.

**Chapter 7** contains a **discussion of the specific electrical alterations in the dog with chronic complete atrioventricular block** and how these alterations could lead to arrhythmias. The possible pathogenetic stimuli for electrical remodeling are outlined in a schematic diagram.

Finally, in **Chapter 8** the **results of these studies are discussed in broader perspective, from cell to clinic.** A review is given on recent advances in cardiac

arrhythmology related to afterdepolarizations. Subsequently, the emergence of **new views on $Ca^{2+}$-dependent mechanisms of abnormal impulse generation**, and their significance for the initiation and treatment of torsades de pointes are contemplated.

# Samenvatting

Onder normale omstandigheden wordt de ritmische aktiviteit van het hart gecontroleerd door elektrische impulsen die ontstaan in de sinusknoop en die vervolgens door de boezems en de atrioventrikulaire knoop naar de kamers bewegen. Via het gespecialiseerde geleidingssysteem van de kamers (bundel van His, linker en rechter bundeltakken, en Purkinje vezels), worden deze impulsen naar de hartspiercellen van de kamers (ofwel de ventrikels) voortgeleid. Elke hartslag is het resultaat van de gesynchroniseerde aktivatie en de daardoor geïnduceerde contractie van de hartspiercellen in de linker en rechter kamerwand, gevolgd door een herstelfase van de elektrische aktivatie en de relaxatie van de contractie.

In de individuele hartcel initieert elektrische stimulatie tijdens diastole de aktiepotentiaal. Multipele ionenstromen die de celmembraan passeren, zijn verantwoordelijk voor de depolarisatie- en repolarisatie-fasen van de aktiepotentiaal. De depolarisatie (fase 0) gebeurt voornamelijk door de influx van $Na^+$- en $Ca^{2+}$-ionen. De repolarisatie (fasen 1 tot 3) wordt bepaald door vele in- en uitwaartse stromen, waaronder inaktiverende $Na^+$- en $Ca^{2+}$-stromen, verschillende $K^+$-stromen, $Cl^-$-stroom, en de stromen gegenereerd door de $Na^+$-$Ca^{2+}$-uitwisselaar en de $Na^+$-$K^+$-pomp. De rust-membraanpotentiaal (fase 4) wordt in stand gehouden door de zogenaamde inwaarts-rectificerende $K^+$-stroom, de $Na^+$-$K^+$-pomp-stroom, en (afhankelijk van de intracellulaire $Na^+$- en $Ca^{2+}$-concentraties) de $Na^+$-$Ca^{2+}$-uitwisselaar-stroom. Het is waarschijnlijk dat ook andere stromen bijdragen aan de rustfase.

De contractie wordt geïnitieerd door de influx van $Ca^{2+}$-ionen in de cel tijdens de vroege fase van de aktie-potentiaal. Deze influx veroorzaakt de vrijstelling van een veel grotere hoeveelheid $Ca^{2+}$ opgeslagen in het sarcoplasmic reticulum. Het cytoplasmatische $Ca^{2+}$ dat door dit proces (genaamd '*$Ca^{2+}$-geïnduceerde-$Ca^{2+}$-vrijstelling*') wordt vrijgemaakt, aktiveert de myofilamenten, hetgeen de contractie veroorzaakt. Aan het einde van de contractie wordt de meerderheid van de $Ca^{2+}$-ionen weer opgenomen door het sarcoplasmatisch reticulum, terwijl een klein deel via de $Na^+$-$Ca^{2+}$-uitwisselaar uit de cel verdwijnt.



Onder omstandigheden van mechanische overbelasting van het hart, zoals tijdens hypertensie, hartinfarct, kleplijden, idiopathische hypertrofische en gedilateerde cardiomyopathie, en compleet atrioventrikulair geleidingsblok, gebruikt het hart een aantal intrinsieke en extrinsieke mechanismen om te proberen de normale cardiale output te handhaven. Eén van de veranderingen tijdens chronische overbelasting is ventrikulaire hypertrofie, maar vele andere complexe responsen treden ook op. De contractiele eigenschappen van het hart kunnen in het begin een compensatoire adaptatie tonen, maar, afhankelijk van de mate en de duur van de overbelasting, wordt dit vaak gevolgd door de ontwikkeling van hartfalen. Deze contractiele veranderingen

zijn deels gebaseerd op (mal)adaptieve veranderingen van de myocardiale $Ca^{2+}$ homeostase.

Ten aanzien van de elektrofysiologische veranderingen tijdens chronische overbelasting van de hartspier zijn er twee consistente bevindingen die in talloze diermodellen en patiënten met cardiale hypertrofie of falen opvallen: verlenging van de ventrikulaire aktiepotentiaal en toegenomen regionale verschillen in de aktiepotentiaal-duur. Dit kan geaccentueerde QT-variabiliteit op het elektrocardiogram veroorzaken en latente of overte vormen van verworven QT-prolongatie. Beide zijn geassocieerd met een verhoogd risico op plotse hartdood als gevolg van een toegenomen gevoeligheid voor kamertachycardieën.

In dit proefschrift wordt de cellulaire basis van verworven QT-verlenging en verhoogde gevoeligheid voor polymorfe ventrikulaire tachycardieën, de zogenaamde '*torsades de pointes*', in honden met chronisch compleet atrioventrikulair geleidingsblok onderzocht. Hiervoor werden volwassen honden geopereerd en hun atrioventrikulaire geleiding onherstelbaar geblokkeerd. In deze toestand kloppen de boezems en de kamers van het hart onafhankelijk van elkaar. De hartslag daalt naar ongeveer 45 slagen per minuut en is volledig afhankelijk van impulsvorming in de kamers, welke intrinsiek traag is. Dientengevolge stijgen het slagvolume tijdens systole en de vulling van de kamers tijdens diastole. Deze staat van verhoogde cardiale belasting veroorzaakt hypertrofie van zowel de linker- als de rechterventrikel.

**Hoofdstuk 1** bevat de **algemene introduktie** van het proefschrift en een **historisch overzicht van de congenitale en verworven lange-QT-syndromen, en *torsades de pointes***. Er wordt in beschreven dat de **ventrikulaire ritmestoornissen van cardiale hypertrofie en falen**, tenminste gedeeltelijk, gebaseerd lijken te zijn op pathologische aktiepotentiaal-verlenging en verhoogde regionale dispersie van de repolarisatie, en zo een gelijkenis vertonen met de lange-QT-syndromen. Het hondenmodel met compleet atrioventrikulair blok wordt geïntroduceerd en de doelstellingen van de studie geformuleerd. De betekenis van '*The Substrate*' en '*The Trigger*' wordt uitgelegd.

In **Hoofdstuk 2** wordt de **regionale heterogeniteit in de vorm en de duur van de aktiepotentiaal in het normale hondenhart beschreven**. De nieuwe bevinding van aktiepotentiaal-verschillen tussen het linker- en rechterventrikel midmyocard wordt verder onderzocht in voltage-clamp-experimenten waarmee de diverse ionenstromen afzonderlijk bestudeerd kunnen worden. Verschillen in $K^+$-stromen lijken bij te dragen aan de aktiepotentiaal-verschillen. Dit betekent dat de elektrische veranderingen van het kamermyocard tijdens cardiale overbelasting reeds beginnen met regionaal ongelijke aktiepotentiaal-kenmerken, hetgeen in acht moet worden genomen om de aritmogenese onder zulke omstandigheden te verklaren.

In **Hoofdstuk 3** wordt de **cellulaire basis van biventrikulaire hypertrofie en aritmogenese in de hond met chronisch compleet atrioventrikulair geleidingsblok** onderzocht. Ventrikulaire vergroting is het gevolg van cellulaire hypertrofie van zowel de linker- als de rechterkamercellen. In dit diermodel zijn de (normaal reeds aanwezige) interventrikulaire verschillen van de aktiepotentiaal-duur vergroot, hoofdzakelijk door

een forse verlenging van de aktiepotentiaal van de linkerventrikel. Midmyocardiale cellen van beide kamers vertonen een abnormale respons op klasse-III-antiaritmica met een veel grotere verlenging van de aktiepotentialen en een frequenter voorkomen van vroege nadepolarisaties dan controlecellen. De resultaten geven aan dat de ventrikulaire repolarisatie in chronisch compleet atrioventrikulair blok intrinsiek verzwakt is en kan predisponeren voor klasse-III-afhankelijke torsades de pointes in vivo.

In **Hoofdstuk 4** wordt ingegaan op een **verklaring voor de repolarisatie-afwijkingen in de hond met chronisch compleet atrioventrikulair geleidingsblok.** Het blijkt dat een afname van bepaalde $K^+$-stromen hieraan bijdraagt. In linker en rechter midmyocardiale cellen, vertoont de traag-aktiverende component van de zogenaamde delayed rectifier $K^+$ stroom (die een significante bijdrage in de normale ventrikulaire repolarisatie heeft) opmerkelijk lagere amplitudes. Verder is in de rechterkamercellen de snel-aktiverende component van de delayed rectifier $K^+$ stroom ook verlaagd. In tegenstelling tot andere diermodellen en patiënten met cardiale hypertrofie of falen is de zogenaamde transiënte uitwaartse $K^+$ stroom niet verlaagd. Zo lijkt de ionische basis van verworven QT verlenging in honden met chronisch compleet atrioventrikulair blok op de bekende $K^+$-stroom-afwijkingen van sommige van de humane congenitale lange-QT syndromen.

Een gedetailleerde beschrijving van de **cardiale contractiele eigenschappen en de cellulaire $Ca^{2+}$ homeostase in honden met chronisch compleet atrioventrikulair geleidingsblok** wordt gegeven in **Hoofdstuk 5**. De contractiele funktie in vivo is verhoogd, met name tijdens het trage idioventrikulaire ritme. De cellulaire contractie en $Ca^{2+}$-vrijstelling uit het sarcoplasmatisch reticulum in individuele linker en rechter midmyocardiale myocyten zijn eveneens verhoogd tijdens trage stimulatie-frequenties. Terwijl de $Ca^{2+}$-influx door L-type $Ca^{2+}$-kanalen onveranderd is, is de $Ca^{2+}$-influx via uitwaartse $Na^+$-$Ca^{2+}$-uitwisseling significant verhoogd en draagt dit bij tot cellulaire $Ca^{2+}$ lading, maar ook tot overlading. De inwaartse $Na^+$-$Ca^{2+}$-uitwisselaarstroom is verhoogd in linker-, maar niet in rechterventrikelcellen en in respons op de grotere $Ca^{2+}$ transienten kunnen deze voldoende inwaartse stromen genereren om de repolarisatie te verzwakken. Om deze redenen kan een toegenomen $Na^+$-$Ca^{2+}$-uitwisseling de contractiele adaptatie tijdens chronisch compleet atrioventrikulair blok verbeteren, maar op hetzelfde moment de kans op ritmestoornissen vergroten door een toename van de regionale dispersie van de repolarisatie en de neiging tot $Ca^{2+}$ overlading en spontane vrijstelling van $Ca^{2+}$ uit het sarcoplasmatisch reticulum.



In **Hoofdstuk 6** worden de **aritmogene consequenties van spontane $Ca^{2+}$ vrijstelling uit het sarcoplasmatisch reticulum in normale myocyten van het hondenhart** besproken. $Ca^{2+}$ overlading wordt geïnduceerd door lage concentraties isoproterenol. Isoproterenol stimuleert de $\beta 1$- en $\beta 2$-adrenerge receptoren en hun intracellulaire second messengers, hetgeen leidt tot vergrote L-type $Ca^{2+}$-stromen en verhoogde $Ca^{2+}$ opname in het sarcoplasmatisch reticulum. Op basis van contractie-metingen kan geconcludeerd worden dat spontane $Ca^{2+}$ vrijstelling tijdens en na de aktiepotentiaal kan optreden, en gepaard kan gaan met vroege en late nadepolarisaties. Deze

membraan-responsen kunnen via verschillende mechanismen nieuwe aktiepotentialen veroorzaken. De resultaten geven aan dat een $Ca^{2+}$-geaktiveerde membraan-stroom noodzakelijk is voor beide typen van nadepolarisaties. Het belang van deze mechanismen ligt in hun capaciteit de extrasystolische aktiviteit te genereren die torsades de pointes kan initiëren onder omstandigheden van verhoogde sympathische aktivatie.

**Hoofdstuk 7** bestaat uit een **discussie van de specifieke elektrische veranderingen in de hond met chronisch compleet atrioventrikulair geleidingsblok** en hoe ze tot ritmestoornissen kunnen leiden. De mogelijke pathogenetische stimuli voor elektrofysiologische veranderingen worden in een schematisch diagram weergegeven.

Als laatste worden in **Hoofdstuk 8 de resultaten van deze studies in breder perspectief bediscussieerd, van cel tot kliniek.** Een overzicht van de recente vooruitgangen op het gebied van de cardiale aritmologie gerelateerd aan nadepolarisaties wordt gegeven. Vervolgens worden **nieuwe inzichten over $Ca^{2+}$-afhankelijke mechanismen van abnormale impulsvorming**, en hun belang voor de initiatie en behandeling van torsades de pointes besproken.