

# Beat-to-beat variability of repolarisation and drug-induced torsades de pointes in the canine heart

Citation for published version (APA):

Thomsen, M. (2005). *Beat-to-beat variability of repolarisation and drug-induced torsades de pointes in the canine heart*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20050415mt>

## Document status and date:

Published: 01/01/2005

## DOI:

[10.26481/dis.20050415mt](https://doi.org/10.26481/dis.20050415mt)

## 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](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## English Summary

The function of the ventricles of the heart is to mechanically drive blood through the vessels. The ventricles consist mainly of muscular tissue that contracts when activated. For contraction to act synchronised, electrical impulses control the rate and the sequential order of regional activation.

The muscle fibres of the ventricles consist primarily of cardiomyocytes, which are the heart-specific muscle cells. In every single myocyte electrical stimulation initiates an action potential. Charged ions flow through channels in the outer membrane of the cell, causing changes in the voltage difference over the membrane. Upon electrical stimulation of the cardiomyocyte, depolarisation followed by repolarisation shapes the action potential. The combination of all action potentials instigated throughout the heart is the basis of the electrocardiogram.

Changes in the force of depolarisation and/or repolarisation will change the shape of the action potential and when this occurs in a significant fraction of cardiac myocytes, the morphology of the electrocardiogram will change. The present thesis addresses changes in repolarisation, i.e. the electrical “relaxation” of the heart, as a cause of ventricular arrhythmia. If the ionic currents responsible for the repolarisation decrease, repolarisation is delayed, the action potential prolongs and so does the QT interval on the electrocardiogram. Repolarisation is an important cardiac event that enables the heart to be ready for the next cycle. Considerable reserve of the repolarising ion currents is normally present to secure that a fast electrical recovery is maintained. Inhibitions of these currents may deplete repolarisation reserve in such a way that the myocyte will be unable to remain electrical active and contribute to ventricular contraction. Furthermore, since the individual myocytes are intricately connected to each other, the failure of repolarisation in a cell will influence a neighbouring cell and can lead to the initiation of a premature action potential. The fast and timely generation of abnormal impulses may cause depolarising wave fronts that can initiate ventricular tachyarrhythmia. If the ventricles are susceptible to the initiated arrhythmia, it may be sustained. When the ventricular arrhythmia occurs in a setting of reduced repolarisation reserve it usually has a polymorphic appearance on the electrocardiogram with typical twisting around the baseline. If the preceding repolarisation is overtly prolonged this arrhythmia is called torsades de pointes. This term is pleasant for ear and describes a beautiful electrocardiographic feature. Unfortunately, torsades de pointes can be fatal when it deteriorates into ventricular fibrillation.

Decreases in repolarisation reserve can occur as acquired (heart disease, metabolic or electrolyte disturbances), congenital (inherited) or drug-induced syndromes. Pharmaceutical companies, regulatory authorities and scientific communities

are concerned with the latter one, because a number of drugs have been directly connected to a decrease in repolarisation reserve and a risk of lethal torsades de pointes to a level where the drugs are withdrawn from the market.

**Chapter 1** of the present thesis is the general introduction, which describes the current efforts to assess the proarrhythmic potential of drugs before they are tested in humans. Different levels of investigation are described, emphasizing the importance of evaluating potential repolarisation-dependent adverse effects on the level of individual ion currents, integrated action potentials and electrocardiograms. The deficiency of reliable electrophysiological parameters to predict proarrhythmia is discussed and the aims of the thesis are put forward.

In **Chapter 2** the cardiac electrophysiological properties of the antipsychotic agent sertindole are described. By decreasing the repolarisation reserve, sertindole is able to prolong the action potential and QT interval in normal dogs and in dogs with an acquired reduction in their repolarisation reserve. In the latter dogs, torsades de pointes are induced by high doses of sertindole. Thus, an important finding in this study is that ventricular electrical remodelling of the ventricles is a prerequisite for the induction of torsades de pointes. The dose-dependent difference in the induction of torsades de pointes is not reflected in a dose-dependent prolongation of repolarisation, confirming that QT prolongation *per se* is a poor predictor of torsades de pointes.

In **Chapter 3** a novel electrophysiological measure is proposed that is based on temporal differences rather than averaged values of repolarisation duration. The parameter beat-to-beat variability of repolarisation provides information whether the dose of the proarrhythmic agent *d*-sotalol will ultimately induce torsades de pointes in an experiment. Importantly, this information is available early in the experiment, well before the initiation of ventricular extrasystoles, thus enabling the prediction of torsades de pointes with stronger confidence.

In addition to investigating the dose of a proarrhythmic drug, we have also examined the rate of intravenous administration in the studies for **Chapter 4**. Decreasing the rate of infusion of the drug NS-7 creates lower peak blood concentrations of the agent and lesser proarrhythmia. At the same time, the QT interval is equally prolonged while beat-to-beat variability of repolarisation is able to predict differences in the proarrhythmic outcome.

Our historical registry of sudden cardiac death in dogs with ventricular electrical remodelling is analysed in **Chapter 5**. Dogs with a severely reduced repolarisation reserve are so vulnerable to proarrhythmic stimuli that they die suddenly in their cage. These dogs have a very high beat-to-beat variability of repolarisation, which corresponds to a higher incidence of torsades de pointes and sudden death.

Furthermore, alongside cardiac remodelling after atrioventricular block, the beat-to-beat variability of repolarisation increases.

In *Chapter 6* it is described how beat-to-beat variability of repolarisation can be manipulated. When a drug increases beat-to-beat variability, torsades de pointes are expected. Vice versa, when the variability is decreased from an already proarrhythmic level, torsades de pointes can be prevented or stopped.

Finally, in *Chapter 7* the results of all previous chapters are discussed in a wider perspective. The concept of repolarisation reserve is described and beat-to-beat variability of repolarisation is compared to traditional electrophysiological parameters and to other measures of repolarisation variability. Hypothetical mechanistic explanations based on the current knowledge are considered, concluding that additional research is necessary for the full understanding of this phenomenon at the cellular and ionic level. An important conclusion of this thesis is that pathological animal models of proarrhythmia are required for the assessment of proarrhythmia next to existing assays of drug-induced changes in ventricular repolarisation. Furthermore, it is plausible that the magnitude of beat-to-beat variability of repolarisation is closely associated with the amount of remaining repolarisation reserve.

## Nederlandse Samenvatting

De functie van het hart is ervoor te zorgen dat het bloed door de bloedvaten wordt gepompt. De ventrikels bestaan voornamelijk uit spierweefsel dat samentrekt als het geactiveerd wordt. Om de samentrekking georganiseerd te laten gebeuren, bepalen elektrische prikkels het hartritme en de volgorde van activering van bepaalde delen van het hart.

De spierbundels van de ventrikels bestaan voornamelijk uit hartspiercellen. In elke hartspiercel leidt een elektrische prikkel tot een actiepotentiaal. Geladen ionen gaan door kanalen in de buitenste membraan van de cel. Dit leidt tot een voltage verschil over het membraan. Na elektrische stimulatie van de hartspiercel ontstaat depolarisatie gevolgd door repolarisatie, er ontstaat een actiepotentiaal. Alle actiepotentialen van het hart samen vormen de basis voor het elektrocardiogram. Veranderingen in de sterkte van de depolarisatie en/of repolarisatie zullen de actiepotentiaal veranderen. Wanneer dit in een significant deel van de hartspiercellen gebeurt, zal de vorm van het elektrocardiogram veranderen. In dit proefschrift worden veranderingen in de repolarisatie (de elektrische relaxatie van het hart) aangewezen als een oorzaak van ventriculaire ritmestoornissen. Als de ion-stromen die verantwoordelijk zijn voor de repolarisatie afnemen, dan wordt de repolarisatie vertraagd. Hierdoor verlengen zowel de actiepotentiaal als het QT interval op het elektrocardiogram. Repolarisatie zorgt ervoor dat het hart weer tijdig “klaar” is voor de volgende samentrekking. Onder normale omstandigheden is voldoende repolarisatie-reserve stroom aanwezig, wat ervoor zorgt dat een snel elektrisch herstel gehandhaafd blijft. Afname van deze stromen kunnen de repolarisatie-reserve zodanig verstoren dat een hartspiercel niet in staat zal zijn elektrisch actief te blijven en bij te dragen aan ventriculaire contractie. Aangezien de hartspiercellen op een complexe manier aan elkaar gekoppeld zijn, zal de repolarisatiestoornis van één cel de omliggende cellen beïnvloeden en kan dit leiden tot het ontstaan van een vroegtijdige actiepotentiaal. Het snelle en vroegtijdige ontstaan van abnormale impulsen kan depolariserende golven veroorzaken die snelle ventriculaire ritmestoornissen tot gevolg kunnen hebben. Als de ventrikels gevoelig zijn voor de beginnende ritmestoornissen, dan zijn deze ritmestoornissen aanhoudend. Als deze ventriculaire ritmestoornis plaats vindt op basis van verminderd repolarisatievermogen, dan uit zich dit in het elektrocardiogram meestal “polymorf”, met een kenmerkende draaiing rond de basislijn van het elektrocardiogram. Als de voorafgaande repolarisatie duidelijk verlengd is, dan noemt men deze ritmestoornis torsades de pointes. Deze mooi klinkende naam beschrijft een mooi elektrocardiografisch kenmerk van het hart. Helaas kan torsades de pointes echter dodelijk zijn als het eindigt in kamerfibrilleren.

Verminderde repolarisatie-reserve kan verschillende achtergronden hebben: het kan

verkregen zijn (hartziekte, metabole of elektrolytische veranderingen), aangeboren zijn (geërfd), of door medicijnen worden geïnduceerd. De geneesmiddelenindustrie, de overheid en wetenschappelijke instanties zijn bezorgd om de laatstgenoemde, aangezien van een aantal geneesmiddelen is aangetoond dat ze rechtstreeks de repolarisatie-reserve verminderen en op die manier het risico op torsades de pointes ritmestoornissen zodanig vergroten dat de geneesmiddelen van de markt moesten worden gehaald.

**Hoofdstuk 1** van dit proefschrift is de algemene introductie. Hierin worden de huidige pogingen beschreven die gedaan worden om het vermogen van medicamenten om ritmestoornissen te veroorzaken in kaart te brengen voordat deze op mensen worden getest. Er zijn al diverse onderzoeken beschreven die de nadruk leggen op het belang van het testen van mogelijke repolarisatie-afhankelijke nadelige effecten op ionkanaal-, actiepotentiaal- en electrocardiogramniveau. Het ontbreken van betrouwbare elektrofysiologische parameters die gevoeligheid voor ritmestoornissen kunnen voorspellen wordt in dit hoofdstuk bediscussieerd. Tevens wordt hier het doel van dit proefschrift beschreven.

In **Hoofdstuk 2** worden de elektrofysiologische eigenschappen van het antipsychotische medicament sertindole beschreven. In zowel normale honden als honden met een verkregen vermindering van de repolarisatie kan sertindole de actiepotentiaalduur en de QT tijd verlengen. In die laatste groep honden kan een hoge dosis sertindole torsades de pointes ritmestoornissen opwekken. Een belangrijke bevinding in deze studie is dan ook dat ventriculaire remodelering van de ventrikels vereist is voor het opwekken van torsades de pointes ritmestoornissen. Het dosis-afhankelijke verschil in het voorkomen van torsades de pointes ritmestoornissen is niet terug te vinden als een dosis-afhankelijke verlenging van de repolarisatie. Dit bevestigt dat QT-tijd verlenging alléén voor torsades de pointes ritmestoornissen een slechte voorspeller is.

In **Hoofdstuk 3** wordt een nieuwe elektrofysiologische maat voorgesteld die is gebaseerd op temporele verschillen in plaats van op gemiddelde waarden van repolarisatieduur. De parameter slag-op-slag variabiliteit van repolarisatie (*beat-to-beat variability of repolarisation*) geeft informatie over het feit of een dosis van het pro-aritmogene medicament *d*-sotalol uiteindelijk tot torsades de pointes zal leiden in een experiment. Het is van belang dat deze informatie op een vroeg punt in een experiment beschikbaar is, en wel vóór het ontstaan van extra ventriculaire slagen, om op deze manier met grote zekerheid torsades de pointes ritmestoornissen te kunnen voorspellen.

In **Hoofdstuk 4** wordt vervolgens de snelheid van intraveneuze toediening van pro-aritmische medicamenten onderzocht. Tragere infusie van het medicament



NS-7 levert lagere maximale bloedconcentraties van dit medicament op en minder ritmestoornissen. De QT tijd is hierbij gelijkmatig verlengd terwijl slag-op-slag variabiliteit van repolarisatie de verschillen in gevoeligheid voor ritmestoornissen kan voorspellen.

Onze historische registratie van plotse hartdood in honden met ventriculaire elektrische remodelering wordt geanalyseerd in *Hoofdstuk 5*. Honden met een ernstig verminderde repolarisatie-reserve zijn zo vatbaar voor pro-aritmogene stimuli, dat ze plotseling kunnen overlijden in hun hok. Deze honden hebben een zeer hoge slag-op-slag variabiliteit van repolarisatie, wat overeenkomt met een hogere incidentie van torsades de pointes ritmestoornissen en plotse hartdood. Verder groeit de slag-op-slag variabiliteit van repolarisatie naast de remodelering van het hart na compleet hartblok.

In *Hoofdstuk 6* wordt beschreven hoe slag-op-slag variabiliteit van repolarisatie kan worden gemanipuleerd. Als een medicament de variabiliteit van repolarisatie verhoogt, kunnen torsades de pointes ritmestoornissen worden verwacht. Door slag-op-slag variabiliteit van repolarisatie te verlagen van een pro-aritmogeen niveau tot een non-aritmogeen niveau, kunnen torsades de pointes ritmestoornissen worden voorkomen of gestopt.

Uiteindelijk zullen in *Hoofdstuk 7* de resultaten van alle voorafgaande hoofdstukken in een breder perspectief worden neergezet. Het concept van repolarisatie-reserve wordt beschreven en slag-op-slag variabiliteit van repolarisatie wordt vergeleken met traditionele elektrofysiologische parameters en met andere maten voor variabiliteit van de repolarisatie. Hypothetische mechanistische verklaringen, gebaseerd op de huidige kennis, zijn in overweging genomen, waarbij geconcludeerd wordt dat verder onderzoek noodzakelijk is om dit fenomeen volledig op cellulair en ionkanaalniveau te kunnen verklaren. Een belangrijke conclusie in dit proefschrift is dat pathologische pro-aritmogene diermodellen nodig zijn om aanvullende informatie te krijgen over pro-aritmogene eigenschappen van medicamenten, naast de reeds bestaande testen voor medicament-gerelateerde veranderingen in de ventriculaire repolarisatie. Verder is het zeer waarschijnlijk dat de grootte van de slag-op-slag variabiliteit van repolarisatie nauw gerelateerd is aan de aanwezige repolarisatie-reserve.

Dansk Resumé

Hjertekamrenes funktion er at pumpe kroppens blod gennem blodårerne ud til kroppen. Hjertekamrene består af muskulatur, der kontraherer når det aktiveres. For at kontraheringen er synkroniseret, kontrollerer elektriske impulser rytmen og den regionale rækkefølge af aktiveringen.

Muskelfibrene i hjertekamrene består af kardiomyocytter, der er specialiserede hjerte-muskelceller. En elektrisk impuls starter et aktionspotentiale i hver kardiomyocyt. Elektrisk ladede ioner strømmer gennem den ydre cellemembran, hvilket forårsager en ændring af spændingspotentialet over membranen.

Depolarisering efterfulgt af repolarisering former aktionspotentialet efter kardiomyocytten er blevet aktiveret. Alle aktionspotentialer initieret i hjertet er ophav til elektrokardiogrammet.

Ændringer i styrken af depolarisering og/eller repolarisering vil ændre formen af aktionspotentialet og når dette sker i tilstrækkeligt mange kardiomyocytter vil elektrokardiogrammet også ændres. Denne afhandling beskæftiger sig med ændringer i repolariseringen, med andre ord den elektriske "afslappelse" af hjertet, som baggrund for rytmeforstyrrelser i hjertekamrene. Hvis ion-strømmene, der er årsag til repolariseringen forringes, forlænges repolariseringen, hvilket bevirker at aktionspotentialet og QT intervallet på elektrokardiogrammet forlænges.

Repolariseringen er en vigtig del af hjertets rytme, fordi det medvirker til, at hjertet er klar til at pumpe den næste portion blod ud i kroppen. Betragtelig reserve af ion-strømme er normalt til stede, hvilket sikrer en hurtig repolarisering. Hvis ion-strømmene er nedsat kan reserven blive opbrugt således at kardiomyocytten bliver elektrisk inaktiv og dermed ikke er i stand til at bidrage til sammentrækningen af hjertemuskulaturen. Da alle kardiomyocytterne er tæt koblet til hinanden vil en celle, der ikke formår at repolarisere påvirke nabocellerne, hvilket kan give anledning til et for tidligt og usynkroniseret aktionspotentiale. Tidlige aktionspotentialer, der opstår på sårbare tidspunkter kan være ophav til depolariserende bølger, der kan starte en rytmeforstyrrelse. Hvis hjertekamrene er modtagelige for denne rytmeforstyrrelse, kan denne blive opretholdt. Hvis rytmeforstyrrelsen opstår i en situation, hvor repolariseringsreserven er nedsat har den typisk et polymorft udseende på elektrokardiogrammet med typiske drejninger omkring sin egen akse. Hvis den forudgående repolarisering er åbenlyst forlænget, kalder man rytmeforstyrrelsen torsades de pointes. Dette navn lyder godt og beskriver et flot elektrokardiografisk fænomen. Desværre kan torsades de pointes være dødbringende, hvis den forværres til fibrillering i hjertekamrene.

Nedsat repolariseringsreserve kan være erhvervet (hjerte sygdomme, metabolit eller elektrolyt forstyrrelser), medfødt (genetisk disponering) eller medicin-induceret. Medicin industrien, sundhedsstyrelsen og videnskabelige grupper er interesserede

i de medicin-inducerede tilfælde af nedsat repolariseringsreserve, fordi en række produkter er blevet direkte forbundet med nedsat repolariseringsreserve og risiko for dødelig torsades de pointes til en sådan grad, at de er blevet taget af markedet.

**Kapitel 1** af denne afhandling er en general introduktion, der beskriver de undersøgelser, der bliver gjort før ny medicin bliver afprøvet i mennesker. Forskellige undersøgelser bliver beskrevet med vægt lagt på at evaluere den ny medicins bivirkninger på repolariseringen på ion-strøm niveau, på aktionspotentiale niveau og på elektrokardiogram niveau. Mangelen på pålidelige elektrofysiologiske parametre, som kan forudsige rytmeforstyrrelser er diskuteret og målsætningen med denne afhandling er formuleret.

I **Kapitel 2** er de elektrofysiologiske bivirkninger af det antipsykotiske medicin sertindole beskrevet. Ved at nedsætte repolariseringsreserven kan sertindole forlænge aktionspotentialet og QT intervallet på elektrokardiogrammet i normale hunde og i hunde med erhvervet nedsat repolariseringsreserve. I de sidste hunde kan høje doser af sertindole starte torsades de pointes rytmeforstyrrelser. En vigtig konklusion i denne afhandling er, at et disponeret hjerte med nedsat repolariseringsreserve er nødvendigt for at inducere rytmeforstyrrelsen. Den dosis-afhængige torsades de pointes induktion er ikke reflekteret i den dosis-afhængige forlængelse af repolariseringen, hvilket bekræfter at QT forlængelse på elektrokardiogrammet er en upålidelig parameter når torsades de pointes skal forudsiges.

**Kapitel 3** beskriver en ny elektrofysiologisk parameter, som er baseret på tidsafhængige forskelle i stedet for gennemsnitlige værdier for repolarisering. Den nye parameter kaldes slag-til-slag variabilitet af repolarisering (*beat-to-beat variability of repolarisation*) og informerer om, hvorvidt en dosis af det rytmeforstyrrende medicin *d-sotalol* giver rytmeforstyrrelser senere i undersøgelsen. Denne information er tilstede tidligt i undersøgelsen, før de tidlige aktionspotentialer opstår, og man er således i stand til at forudsige torsades de pointes med større sikkerhed.

Foruden at undersøge dosis-afhængigheden af et rytmeforstyrrende medicin, undersøgte vi også effekten af at ændre hastigheden af intravenøs administration i studierne bag **Kapitel 4**. Ved at nedsætte infusionshastigheden af medicinen NS-7 fik vi lavere blodkoncentrationer af dette stof og færre rytmeforstyrrelser. Samtidigt var forlængelsen af repolarisering ens, mens slag-til-slag variabiliteten af repolariseringen kunne forudsige, hvorvidt rytmeforstyrrelser ville blive induceret. Vores historiske arkiv af pludseligt hjertestop hos hunde, der er disponeret for hjerterytmeforstyrrelser, er analyseret i **Kapitel 5**. Hunde med stor nedsættelse af repolariseringsreserven er så sårbare overfor rytmeforstyrrende stimuli, at de får hjertestop i deres bure. Disse hunde har en meget høj slag-til-slag variabilitet

af repolariseringen, hvilket er i overensstemmelse med højere risiko for torsades de pointes og pludseligt hjertestop. Endvidere øges slag-til-slag variabiliteten af repolariseringen samtidigt med, at hundene bliver disponeret for rytmeforstyrrelser efter atrio-ventrikulær blokade.

I **Kapitel 6** beskrives, hvorledes slag-til-slag variabiliteten af repolariseringen kan ændres. Torsades de pointes er forventet, hvis en medicin øger slag-til-slag variabiliteten af repolariseringen. På den anden side, hvis slag-til-slag variabiliteten af repolariseringen bliver nedsat fra et højt rytmeforstyrrende niveau, kan torsades de pointes forebygges eller stoppes.

Til sidst, i **Kapitel 7** er resultaterne fra de forgående kapitler diskuteret i et bredere perspektiv. Repolariseringsreserven som koncept er beskrevet og slag-til-slag variabiliteten af repolariseringen er sammenlignet med traditionelle elektrofysiologiske parametre og andre metoder til at måle variabilitet af repolarisering. Hypotetiske mekanistiske forklaringer baseret på den tilstedeværende viden er drøftet, konkluderende at yderligere forskning er nødvendig før slag-til-slag variabilitet af repolarisering kan forstås på cellulært og ion-strøm niveau. En vigtig konklusion af denne afhandling er, at patologiske dyremodeller for rytmeforstyrrelser er et nødvendigt supplement til eksisterende undersøgelser af medicin-forårsaget ændringer af hjertets repolarisering. Endvidere er det sandsynligt at graden af slag-til-slag variabilitet af repolarisering er tæt forbundet med mængden af tilbageværende repolariseringsreserve.