

# Computational analysis of $\beta$ -adrenergic stimulation and its effects on cardiac ventricular electrophysiology

Citation for published version (APA):

Heijman, J. (2012). Computational analysis of  $\beta$ -adrenergic stimulation and its effects on cardiac ventricular electrophysiology. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20120427jh>

## Document status and date:

Published: 01/01/2012

## DOI:

[10.26481/dis.20120427jh](https://doi.org/10.26481/dis.20120427jh)

## 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

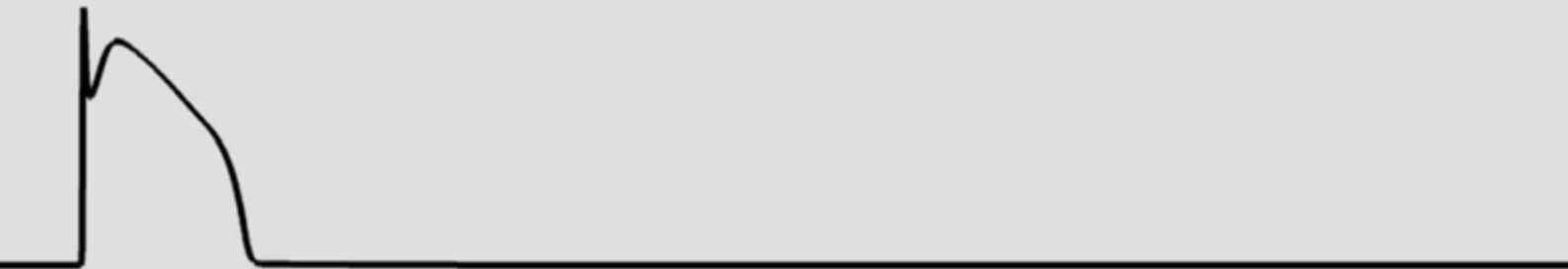
If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

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

providing details and we will investigate your claim.

**SUMMARY**

**SAMENVATTING**



## SUMMARY

The pump function of the heart is driven by a complex sequence of electrophysiological signals. Originating from the sinus node, electrical activation spreads rapidly through the atria. It is delayed in the atrioventricular node to allow time for the ventricles to fill with blood, after which the impulse travels through the specialized conduction system, initiating synchronized activation (and subsequent contraction) of the ventricular muscle. To meet varying demands, cardiac output is dynamically modulated by the autonomic nervous system via its effects on the electrophysiology of individual cardiac myocytes, including those of the impulse and conduction system. Sympathetic stimulation occurs during exercise or as part of the fight-or-flight response, and results in an increase in force of contraction, heart rate, rate of relaxation, and conduction velocity (called positive inotropy, chronotropy, lusitropy and dromotropy, respectively). In contrast, parasympathetic stimulation results in a decrease in these parameters. In a number of cardiovascular diseases, an increased sympathetic tone has been associated with the development of potentially lethal ventricular tachyarrhythmias.

At the level of the single ventricular myocyte, activation of  $\beta$ -adrenergic receptors by norepinephrine released from cardiac sympathetic nerve endings activates an intracellular pathway resulting in modulation of a number of ion channels and  $\text{Ca}^{2+}$  handling proteins. These changes form the basis of the altered electrical and contractile function during sympathetic stimulation.

Computational modeling has proven useful in enhancing our understanding of various components of normal cardiac electrophysiology but also arrhythmogenic mechanisms in a variety of pathological conditions. However, integrated models of sympathetic stimulation and cardiac electrophysiology have only recently become available. In this thesis we employ a combined computational and experimental approach to investigate  $\beta$ -adrenergic stimulation and its effects on ventricular electrophysiology in physiological and pathological conditions.

**Chapter 1** represents a general introduction to this thesis and provides a *brief summary of cardiac cellular electrophysiology and its modulation by adrenergic stimulation*. The single cardiac myocyte is a complex entity in which numerous processes interact to modulate the action potential and  $\text{Ca}^{2+}$  transient. Computational models provide the opportunity to integrate a wide range of experimental data and make testable predictions about the effect of various interventions in such complex systems. They have been applied successfully since the early 1960s and their use has expanded rapidly in the past decade. We provide a *historical overview of computational modeling of cardiac electrophysiology and highlight recent developments*.

In **Chapter 2**, an *improved computational model of the canine epicardial electrophysiology* is presented. The model, an extension of the Hund-Rudy dynamic model (2004), is *able to reproduce a wide range of experimentally observed rate-dependent behaviors* in the single cardiac myocyte and

in tissue, including action potential (AP) duration (APD) adaptation, restitution, and accommodation. Our simulations provide valuable insights into the mechanistic basis of rate-dependent phenomena important for determining the heart's response to rapid and irregular rates, such as those occurring during arrhythmias.

The electrophysiological model of the canine epicardial muscle cell provides the basis for **Chapter 3**, in which the model is extended with a *framework to simulate localized  $\beta$ -adrenergic stimulation and its electrophysiological effects* through a population-based modeling approach of non-phosphorylated and phosphorylated substrates. We show that localization of cyclic AMP is critical for a specific response of different substrates to stimulate different  $\beta$ -adrenergic-receptor isoforms. In addition, we determine the contribution of the different substrates to  $\beta$ -adrenergic-stimulation-dependent changes in AP and  $\text{Ca}^{2+}$  transient in physiological conditions.

The  $\beta$ -adrenergic stimulation model is employed in **Chapter 4** to predict the AP changes by *the long-QT syndrome type 1 mutation KCNQ1-A341V*. We provide evidence that this mutation *causes a dominant-negative reduction in cAMP-dependent upregulation of the slowly-activating delayed-rectifier  $\text{K}^+$  current ( $I_{\text{Ks}}$ ) on top of a dominant-negative reduction in baseline  $I_{\text{Ks}}$* . Combined, these alterations result in pronounced APD prolongation in the presence of  $\beta$ -adrenergic stimulation. The loss of cAMP-dependent  $I_{\text{Ks}}$  upregulation in the presence of heterozygous A341V is due to reduced phosphorylation of residue S27 and is also present in heterozygous KCNQ1-G589D and KCNQ1-S27A. These data provide mechanistic insights into cAMP-dependent regulation of  $I_{\text{Ks}}$  and its role in arrhythmogenesis in long-QT syndrome type 1, because heterozygous carriers will exhibit a homozygous phenotype with respect to  $I_{\text{Ks}}$  upregulation.

*The link between  $I_{\text{Ks}}$  and beat-to-beat variability of repolarization duration in isolated canine ventricular myocytes is made* in **Chapter 5**. We show that  $\beta$ -adrenergic stimulation is able to rescue the increased variability of repolarization which occurs during blockade of the rapidly-activating delayed-rectifier  $\text{K}^+$  current ( $I_{\text{Kr}}$ ) or during augmentation of the late component of the  $\text{Na}^+$  current ( $I_{\text{NaL}}$ ). In contrast, during  $I_{\text{Ks}}$  blockade, beat-to-beat variability of repolarization is only increased during  $\beta$ -adrenergic stimulation. The increased variability is sensitive to intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  and, at least partly, mediated by the  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchanger.

In **Chapter 6**, we identify *pronounced APD prolongation following spontaneous  $\text{Ca}^{2+}$  release during  $\text{Ca}^{2+}$  overload induced by  $\beta$ -adrenergic stimulation*. This prolongation is exacerbated by pharmacological inhibition of  $I_{\text{Ks}}$ , resulting in a pharmacological model of long-QT syndrome type 1. The interspersed occurrence of APD prolongation explains the large beat-to-beat variability of repolarization observed under these conditions. A combined computational and experimental analysis identifies reduced  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent inactivation of the L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel after spontaneous  $\text{Ca}^{2+}$  release as a major contributor to the APD prolongation.

In **Chapter 7**, the  $\beta$ -adrenergic stimulation model is extended with detailed stochastic formulations of ion-channel gating to further investigate subcellular mechanisms of beat-to-beat variability of repolarization in physiological and pathological conditions. In addition to stochastic channel gating, we identify APD, AP morphology and beat-to-beat variations in  $\text{Ca}^{2+}$  as major modulators of single-cell APD variability. Cell-to-cell coupling is able to reduce variability. This model provides a state-of-the-art tool to investigate cellular electrophysiology, and particularly beat-to-beat variability of repolarization, in a wide variety of conditions.

Finally, **Chapter 8** contains a *general discussion in which the results of these studies are discussed in a broader context*. We provide potential applications of detailed cellular models of cardiac electrophysiology such as those developed for this thesis. The relevance of these models for clinical settings and limitations in their applicability are discussed, and we provide our definition of the term “systems biology” and its potential for personalized medicine.

## SAMENVATTING

De pompfunctie van het hart is het resultaat van een complex samenspel van elektrofysiologische signalen. De elektrische activatiegolf verspreidt zich vanuit de sinusknop snel over de boezems om vervolgens te worden vertraagd in de atrioventriculaire knop zodat de kamers van het hart tijd hebben om te vullen met bloed. Hierna reist de elektrische impuls door het geleidingssysteem en zorgt voor een synchrone activatie (en de daaropvolgende contractie) van het spierweefsel in de hartkamers. Om aan wisselende energiebehoefte te kunnen voldoen, wordt het hart-minuut-volume gereguleerd door het onwillekeurige zenuwstelsel via de elektrofysiologische eigenschappen van individuele spiercellen, waaronder die van het impuls- en geleidingssysteem. Stimulatie van het sympathisch zenuwstelsel, bijvoorbeeld tijdens inspanning of als onderdeel van een 'vecht-of-vlucht' reactie, resulteert in een toename in contractiekracht, hartfrequentie, relaxatie- en geleidingssnelheid (respectievelijk inotropie, chronotropie, lusitropie en dromotropie genaamd). Stimulatie van het parasympathisch zenuwstelsel daarentegen resulteert in een afname van deze eigenschappen. In een aantal hart- en vaatziekten is er een verband aangetoond tussen een toename in sympathische activatie en het ontstaan van potentieel dodelijke kamerritmestoornissen.

Op het niveau van de individuele hartspiercel leidt sympathische stimulatie tot activatie van  $\beta$ -adrenerge receptoren via norepinefrine dat vrijkomt uit cardiale sympathische zenuwuiteinden. Stimulatie van  $\beta$ -adrenerge receptoren activeert een intracellulaire cascade die resulteert in veranderingen in de verschillende ionkanalen en eiwitten die de  $\text{Ca}^{2+}$ -huishouding beïnvloeden. Deze veranderingen vormen de basis voor de veranderde elektrische activiteit en contractie tijdens sympathische stimulatie.

Computationale modellen hebben sterk bijgedragen aan ons begrip van de verschillende componenten die in de elektrofysiologie een rol spelen, waaronder ook het ontstaan van ritmestoornissen onder pathologische condities. Computermodellen die in staat zijn om sympathische stimulatie en cardiale elektrofysiologie te integreren zijn echter pas zeer recentelijk ontwikkeld. In dit proefschrift beschrijven we computationele en experimentele technieken om de effecten te bestuderen van  $\beta$ -adrenerge stimulatie op de elektrofysiologische eigenschappen van het hart onder normale en pathologische omstandigheden.

**Hoofdstuk 1** is de introductie tot dit proefschrift en geeft een *korte samenvatting van de cellulaire elektrofysiologie van het hart en de veranderingen ten gevolge van adrenerge stimulatie*. De individuele hartspiercel is een zeer complex systeem. De bij activatie optredende actiepotential en  $\text{Ca}^{2+}$  golf worden beïnvloed door meerdere processen. Computermodellen stellen ons in staat om een grote verscheidenheid aan experimentele gegevens te integreren en verifieerbare voorspellingen te doen over het effect van veranderingen in een dergelijk complex systeem. Dit soort modellen wordt al succesvol toegepast sinds de jaren '60 en in het afgelopen decennium is het gebruik ervan sterk toegenomen. We geven een *historisch overzicht van computermodellen van de elektrofysiologie van het hart en beschrijven de recente ontwikkelingen in dit vakgebied*.

In **Hoofdstuk 2** wordt een *nieuw model van de elektrofysiologie van de epicardiale spiercel van het hondenhart gepresenteerd*. Dit model, een uitbreiding van het Hund-Rudy model (2004), is *in staat om een grote verscheidenheid aan experimentele frequentie-afhankelijke eigenschappen van individuele hartspiercellen na te bootsen*. Hieronder vallen adaptatie, restitutie en accommodatie van de cardiale actiepotentiaal. De simulaties in dit hoofdstuk bieden nieuwe inzichten in de mechanismen die belangrijk zijn voor de respons van het hart tijdens snelle en onregelmatige hartritmestoornissen.

Met het model van de epicardiale spiercel als basis wordt in **Hoofdstuk 3** *een framework gepresenteerd om lokale  $\beta$ -adrenerge stimulatie en de gevolgen daarvan voor de cellulaire elektrofysiologie te simuleren*. Lokaal cyclisch AMP blijkt essentieel te zijn voor een gerichte beïnvloeding van individuele eiwitten tijdens stimulatie van verschillende types adrenerge receptoren. Daarnaast wordt in dit hoofdstuk de bijdrage bepaald van ieder ionkanaal en eiwit van de  $\text{Ca}^{2+}$ -huishouding aan de veranderingen in actiepotentiaal en  $\text{Ca}^{2+}$  golf tijdens  $\beta$ -adrenerge stimulatie.

Het  $\beta$ -adrenerge model wordt in **Hoofdstuk 4** gebruikt om voorspellingen te doen over de actiepotentiaal-veranderingen in patiënten met het *lange-QT syndroom type 1 door de genmutatie KCNQ1-A341V*. We laten zien dat deze mutatie *zorgt voor een dominant-negatief effect op zowel de basale stroom van het zogenaamde 'slowly-activating delayed-rectifier' kaliumkanaal  $I_{Ks}$  als op de cAMP-afhankelijke toename in  $I_{Ks}$* . Samen zorgen deze veranderingen voor een sterke verlenging van de actiepotentiaal tijdens  $\beta$ -adrenerge stimulatie. Het verlies van de cAMP-afhankelijke  $I_{Ks}$ -toename in heterozygote A341V condities komt door een verminderde fosforylatie van aminozuur S27 en komt ook voor in de heterozygote mutaties KCNQ1-G589D en KCNQ1-S27A. Deze data geven nieuwe inzichten in de cAMP-afhankelijke regulatie van  $I_{Ks}$  en de rol hiervan bij de ontwikkeling van ritmestoornissen.

De invloed van  $I_{Ks}$  op de slag-op-slag veranderingen in repolarisatie in individuele kamerspiercellen van het hondenhart wordt onderzocht in **Hoofdstuk 5**. We laten zien dat adrenerge stimulatie in staat is om de toegenomen slag-op-slag variabiliteit in repolarisatie door inhibitie van de zogenaamde  $I_{Kr}$ -stroom of door toename in de late component van de  $\text{Na}^+$ -stroom te verminderen. De slag-op-slag variabiliteit in repolarisatie neemt daarentegen toe tijdens adrenerge stimulatie indien  $I_{Ks}$  geïnhibeerd is.  $I_{Ks}$ -inhibitie zonder adrenerge stimulatie heeft geen effect op de repolarisatievariabiliteit. Deze kan worden gereduceerd door manipulatie van het intracellulaire  $\text{Ca}^{2+}$  of de  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  uitwisselaar.

In **Hoofdstuk 6** worden de potentiële mechanismen waardoor  $\beta$ -adrenerge stimulatie ritmestoornissen opwekt verder onderzocht. *Tijdens cellulaire  $\text{Ca}^{2+}$ -overlading ten gevolge van  $\beta$ -*

*adrenerge stimulatie ontstaat het spontane vrijkomen van  $Ca^{2+}$ -ionen uit het sarcoplasmatisch reticulum dat resulteert in een sterke verlenging van de daaropvolgende actiepotentiaal. Deze verlenging neemt toe tijdens farmacologische inhibitie van  $I_{Ks}$ . De onregelmatige verlenging van de actiepotentiaal verklaart de grote slag-op-slag variabiliteit van repolarisatie die onder deze omstandigheden kan worden waargenomen. Een combinatie van computationele en experimentele analyses toont aan dat een verminderde  $Ca^{2+}$ -afhankelijke inactivatie van het L-type  $Ca^{2+}$  kanaal in belangrijke mate bijdraagt aan de actiepotentiaal-verlenging.*

In **Hoofdstuk 7** wordt het  $\beta$ -adrenerge model verder uitgebreid met een gedetailleerde stochastische beschrijving van de kinetiek van ionkanalen om de subcellulaire mechanismen van slag-op-slag variabiliteit in repolarisatie in fysiologische en pathologische condities verder te onderzoeken. Naast stochastische aspecten van ionkanalen, vinden wij belangrijke bijdragen van de actiepotentiaal-morfologie en -duur, alsmede van veranderingen in intracellulair  $Ca^{2+}$ . Elektrische koppeling tussen twee cellen is in staat om deze repolarisatievariabiliteit te verminderen. Ons model biedt een state-of-the-art mogelijkheid om de cellulaire elektrofysiologie, en in het bijzonder de slag-op-slag variabiliteit in repolarisatie, te bestuderen onder verschillende omstandigheden.

Tot slot bevat **Hoofdstuk 8** een algemene discussie waarin de resultaten van de verschillende studies van dit proefschrift in een bredere context worden geplaatst. We beschrijven toekomstige mogelijkheden van de gedetailleerde cellulaire computermodellen zoals wij die ontworpen hebben. De relevantie van deze modellen voor de kliniek, en hun voornaamste beperkingen, worden besproken en we geven onze definitie van de term “systeem-biologie” en haar potentiële rol in persoonspecifieke geneeskunde.



