

## Arritmias y muerte súbita en la taquicardia ventricular catecolaminérgica de origen hereditario

José Jalife\*

### Resumen

La enfermedad hereditaria conocida como "taquicardia polimórfica ventricular catecolaminérgica (TPVC)" es altamente letal. Casi el 30% de los pacientes afectados fallecen antes de la edad de 40 años, generalmente a causa de la muerte súbita cardíaca. Hemos utilizado preparaciones de corazón aislado de ratones mutantes en sus receptores cardíacos de rianodina tipo RyR2 (RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup>) para investigar los mecanismos de las arritmias que se condicionan por estímulos adrenérgicos o por la elevación del calcio extracelular ( $[Ca^{2+}]_o$ ). Corroboramos que las arritmias ventriculares bidireccionales y polimórficas, así como la Fibrilación Ventricular, ocurren en más del 50% de los ratones RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup> y en menos del 12% de los ratones de la misma camada no afectados por la mutación. Nuestra hipótesis principal es que la génesis de las arritmias catecolaminérgicas en dichos corazones y, por inferencia, en los pacientes que sufren de TPVC está condicionada por actividad focal que se inicia por postpotenciales tardíos en fibras de Purkinje.

### Summary

VENTRICULAR ARRHYTHMIAS OF CATECHOLAMINERGIC  
ORIGIN AND SUDDEN DEATH

The hereditary disease known as polymorphic catecholaminergic ventricular tachycardia (PCVT) is highly lethal. Almost 30% of the affected patients die before 40 years old, mainly due to sudden cardiac death. We have used isolated hearts from mutant mice (type 2 ryanodine receptors, RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup>) to investigate arrhythmia mechanisms that are adrenergic- and intracellular calcium ( $[Ca^{2+}]_o$ ) levels-dependent. Our results corroborate that polymorphic and bidirectional ventricular arrhythmias, as well as ventricular fibrillation, occurs in 50% of RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup> mice, and in less than 12% of the non-affected mice. Our hypothesis suggests that the origin of catecholaminergic arrhythmias in animals, and possibly in humans, is conditioned by the focal activity that begins by late post-potentials in the Purkinje fibers.

(Arch Cardiol Mex 2007; 77: S4, 175-177)

**Palabras clave:** Taquicardia ventricular catecolaminérgica. Mutación de receptores a rianodina. Fibras de Purkinje.  
**Key words:** Catecholaminergic ventricular tachycardia; Ryanodine receptors mutation; Purkinje fibers.

La enfermedad hereditaria conocida como "taquicardia polimórfica ventricular catecolaminérgica (TPVC)" es altamente letal.<sup>1</sup> Casi el 30% de los pacientes afectados fallecen antes de la edad de 40 años, generalmente a causa de la muerte súbita cardíaca.<sup>2</sup> La TPVC se caracteriza por la presencia en el electrocardiograma (ECG) de taquicardias ventriculares bidireccionales y polimórficas, así como de fibrilación ventricular (FV) que aparecen con el ejercicio, el estrés o con otras condi-

ciones en las que haya un aumento de la actividad adrenérgica.<sup>1-3</sup>

La taquicardia bidireccional es una arritmia muy peculiar y poco frecuente que ocurre tanto en la TPVC como en la intoxicación digitalica.<sup>3,4</sup> En el ECG se identifica por una alternancia en el QRS que se manifiesta en un cambio de 180 grados en el eje eléctrico del corazón y se repite persistentemente de latido a latido.<sup>4</sup> Eventualmente, la taquicardia bidireccional se deteriora hasta convertirse en polimórfica y culminar en

\* Departamento de Farmacología e Instituto de Investigación Cardiovascular. SUNY Upstate Medical University, Syracuse, NY, EEUU.

Correspondencia: José Jalife, M.D. Department of Pharmacology. SUNY Upstate Medical University Syracuse, NY 13210 EEUU.  
E-mail: jalifej@upstate.edu

FV.<sup>1-3</sup> La forma autosómica dominante de la TPVC está ligada a mutaciones genéticas en la proteína que constituye al receptor de la rianodina (RyR2) y que actúa como canal liberador de calcio en la membrana del retículo sarcoplásmico en el miocito ventricular.<sup>3,5</sup> Estudios recientes sugieren que dichas mutaciones resultan en canales RyR2 defectuosos por los que el calcio se fuga continuamente, tanto durante el proceso de contracción sistólica como durante el período de reposo diastólico.<sup>6,7</sup> Todo esto ha llevado a inferir que la actividad arritmogénica en la TVPC está generada por actividad disparada (“triggered activity”) secundaria a postpotenciales tardíos (“delayed afterdepolarizations”).<sup>8</sup>

En un intento de reproducir el fenotipo humano de la TPVC, el grupo italiano de la Doctora Silvia Priori ha utilizado la técnica de modificación genética sitio-específica (knock-in) para generar una línea de ratones heterocigotos para la mutación R4496C (RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup>).<sup>9</sup> En estudios de telemetría, dichos investigadores demostraron que la administración de dosis adecuadas de adrenalina y cafeína a ratones RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup> conscientes condicionaban tanto a taquicardias bidireccionales como polimórficas, así como a FV y por supuesto muerte súbita, lo que no sucedió con ratones no mutantes de la misma camada.<sup>9</sup> Más recientemente el mismo grupo demostró que los miocitos ventriculares provenientes de ratones RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup> desarrollan postpotenciales tardíos tanto en condiciones basales como en la presencia de isoproterenol.<sup>10</sup> Sin embargo, todavía no se ha determinado si los postpotenciales tardíos y la actividad disparada son en realidad responsables de la taquicardia bidireccional o incluso si la arritmia se origina en la masa tridimensional del miocardio o en la red de fibras de Purkinje. Tampoco se sabe si la transición de taquicardia bidireccional a taquicardia y/o a FV involucra a mecanismos eléctricos de actividad disparada focal o de reentrada. Por lo tanto, mi laboratorio, en colaboración con el de la Doctora Priori, ha utilizado preparaciones de corazón aislado de ratones RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup> para investigar los mecanismos de las arritmias que se condicionan por estímulos adrenérgicos o por la elevación del calcio extracelular ( $[Ca^{2+}]_o$ ). Nuestra hipótesis principal es que la génesis de las arritmias catecolaminérgicas en dichos corazones y, por inferencia, en los pacientes que sufren de TPVC

está condicionada por actividad focal que se inicia por postpotenciales tardíos en fibras de Purkinje. Por consiguiente, en el trabajo que recapitulo a continuación, mis colaboradores y yo hemos combinado la técnica del mapeo óptico, con la de patch clamping y con simulaciones por computadora con el propósito de comprobar dicha hipótesis.

Nuestros resultados demostraron que, en ausencia de estímulos adrenérgicos, el corazón aislado de ratón RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup> perfundido con solución oxigenada de Tyrode ( $36 \pm 1$  °C) y una concentración relativamente baja de  $Ca^{2+}$  ( $< 1.8$  mM) no presentó ninguna anomalía en la excitación o la propagación del impulso eléctrico ventricular. Por otro lado, pudimos corroborar que las arritmias ventriculares bidireccionales y polimórficas, así como la FV, ocurren en más del 50% de los ratones RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup> y en menos del 12% de los ratones de la misma camada no afectados por la mutación cuando ambos grupos de ratones se perfunden con  $Ca^{2+}$  elevado (2.7-3.6 mmol/L) e isoproterenol (100-200 nmol/L). Así mismo, la gran mayoría (~80%) de los ratones RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup> y una minoría de los ratones no mutantes que fueron perfundidos con concentraciones fisiológicas de cafeína y adrenalina presentaron arritmias. Además, es importante notar que la taquicardia bidireccional nunca se manifestó en ratones no mutantes. Al utilizar el mapeo óptico<sup>11</sup> en combinación con el ECG, pudimos demostrar que, en los ratones RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup>, la excitación ventricular durante las taquicardias se manifiesta generalmente como ondas epicárdicas concéntricas. Dichas ondas emergen de sitios específicos correspondientes al subendocardio de la zona anterior de la pared libre de cada ventrículo en la que se inserta una rama terminal de la red de Purkinje. También pudimos ver que, mientras que en las taquicardias monomórficas la actividad epicárdica puede manifestarse como descargas focales repetitivas que emergen en un solo punto de cualquiera de ambos ventrículos, en el caso de las bidireccionales las ondas concéntricas emergen alternada y repetitivamente de dos focos específicos: uno en cada una de las paredes libres de ambos ventrículos. Por otro lado, las taquicardias polimórficas son visiblemente multifocales pero eventualmente dan lugar a reentrada y a FV. Todo esto claramente sugiere que el origen unifocal, bifocal o multifocal de las taquiarritmias en la TVPC se encuentra en la

red de células de Purkinje que forma al tejido especializado de conducción ventricular. Pudimos comprobar dicha hipótesis en parte en células de Purkinje de corazones de ratones RyR2/RyR2<sup>R4496C</sup> aisladas por métodos enzimáticos y demostramos en experimentos de patch clamp y fijación de voltaje que dichas células generan postpotenciales tardíos y actividad disparada a niveles significativamente más bajos de  $[Ca^{2+}]_o$  y/o estimulación adrenérgica que células de Purkinje obtenidas de corazones no mutantes. Finalmente, en simulaciones por computadora, utilizamos un modelo bidimensional por medio del cual pudimos confirmar la validez de la hipótesis que la actividad disparada por postpotenciales tardíos en la TPVC se genera preferentemente en células de Purkinje, ya que dichas células se encuentran en un sustrato que ofrece mucho menos carga eléctrica que el que ofrece a sus células el miocardio ventricular tridimensional. Cuando extendimos el modelo

computacional a tres dimensiones para incluir una geometría realista de los ventrículos, así como de las redes de Purkinje del corazón de ratón, pudimos mostrar claramente que el mecanismo de la taquicardia bidimensional se debe a la coexistencia de dos focos ectópicos cuyas descargas alternan de latido a latido. Uno de dichos focos se localiza en la rama derecha y el otro en la rama izquierda de la red de Purkinje. Estos resultados demuestran por primera vez que el sistema especializado de conducción ventricular es una fuente importante de arritmias focales en las taquicardias polimórficas catecolaminérgicas.

### Agradecimiento

Agradezco las subvenciones proporcionadas por el National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes of Health, USA (grants P01 HL039707, R01 HL070074, and R01 HL060843).

### Referencias

1. FRANCIS J, SANKAR V, NAIR VK, PRIORI SG: *Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia*. Heart Rhythm 2005; 2: 550-554.
2. PRIORI SG, NAPOLITANO C, MEMMI M, COLOMBI B, DRAGO F, GASPARINI M, DESIMONE L, COLTORTI F, BLOISE R, KEEGAN R, CRUZ FILHO FE, VIGNATI G, BENATAR A, DELOGU A: *Clinical and molecular characterization of patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia*. Circulation 2002; 106: 69-74.
3. PRIORI SG, NAPOLITANO C, TISO N, MEMMI M, VIGNATI G, BLOISE R, SORRENTINO V, DANIELI GA: *Mutations in the cardiac ryanodine receptor gene (hRyR2) underlie catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia*. Circulation 2001; 103: 196-200.
4. LEVY S, ALIOT E: *Bidirectional tachycardia: a new look on the mechanism*. Pacing Clin Electrophysiol 1989; 12: 827-834.
5. LAITINEN PJ, BROWN KM, PIIPPO K, SWAN H, DEVANEY JM, BRAHMBHATT B, DONARUM EA, MARINO M, TISO N, VIITASALO M, TOIVONEN L, STEPHAN DA, KONTULA K: *Mutations of the cardiac ryanodine receptor (RyR2) gene in familial polymorphic ventricular tachycardia*. Circulation 2001; 103: 485-490.
6. WEHRENS XH, LEHNART SE, HUANG F, VEST JA, REIKEN SR, MOHLER PJ, SUN J, GUATIMOSIM S, SONG LS, ROSEMBLIT N, D'ARMIENTO JM, NAPOLITANO C, MEMMI M, PRIORI SG, LEDERER WJ, MARKS AR: *FKBP12.6 deficiency and defective calcium release channel (ryanodine receptor) function linked to exercise-induced sudden cardiac death*. Cell 2003; 113: 829-840.
7. JIANG D, WANG R, XIAO B, KONG H, HUNT DJ, CHOI P, ZHANG L, CHEN SR: *Enhanced store overload-induced  $Ca^{2+}$  release and channel sensitivity to luminal  $Ca^{2+}$  activation are common defects of RyR2 mutations linked to ventricular tachycardia and sudden death*. Circ Res 2005; 97: 1173-1181.
8. WEHRENS XH, LEHNART SE, MARKS AR: *Intracellular calcium release and cardiac disease*. Annu Rev Physiol 2005; 67: 69-98.
9. CERRONE M, COLOMBI B, SANTORO M, DI BARLETTA MR, SCELSI M, VILLANI L, NAPOLITANO C, PRIORI SG: *Bidirectional ventricular tachycardia and fibrillation elicited in a knock-in mouse model carrier of a mutation in the cardiac ryanodine receptor*. Circ Res 2005; 96: e77-82.
10. LIU N, COLOMBI B, MEMMI M, ZISSIMOPOULOS S, RIZZI N, NEGRI S, IMBRIANI M, NAPOLITANO C, LAI FA, PRIORI SG: *Arrhythmogenesis in Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. Insights From a RyR2 R4496C Knock-In Mouse Model*. Circ Res 2006; 99: 292-298.
11. TAMADDON HS, VAIDYA D, SIMON AM, PAUL DL, JALIFE J, MORLEY GE: *High-resolution optical mapping of the right bundle branch in connexin40 knockout mice reveals slow conduction in the specialized conduction system*. Circ Res 2000; 87: 929-936.