

MEKANISMER FOR MYOKARDIELL DYSFUNKSJON

Ivar Sjaastad, Institutt for eksperimentell medisinsk forskning,
Oslo universitetssykehus Ullevål.

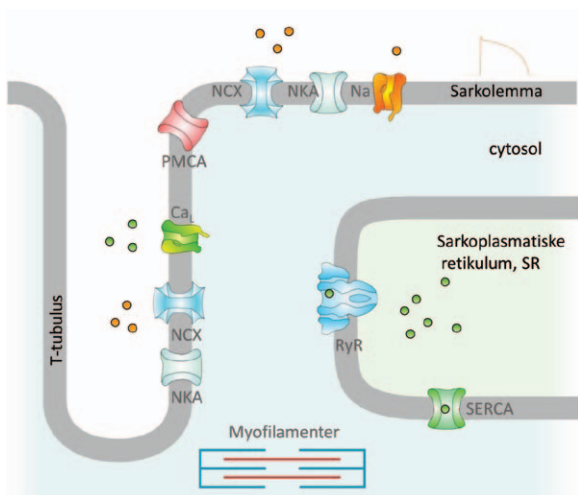
Hjertesvikt, og da spesielt mekanismer for myokardiell svikt, har vært fokus for forskningen ved instituttet de siste 20 årene. Sentrale hypoteser var knyttet til en svikt i eksitasjons-kontraksjons-relaksasjonskoblingen (EK-koblingen) (se figur 1), med fokus på Ca^{2+} -homeostasen. Da jeg startet på instituttet i 1996, falt det sammen med at vi fikk besøk av en gjesteprofessor fra USA som var med på å etablere en viktig cellefysiologisk teknikk hos oss, *patch clamp* (1). Dette er en metode som blant annet gjøre det mulig å undersøke funksjonen til ulike kanaler og pumper i hjertecellenes overflatemembran.

Det første vi fant var at natrium-calcium-ionebytteren (NCX) hadde endret funksjon ved post infarkt-hjertesvikt (1,2). NCX er et membranprotein som står helt sentralt i reguleringen av intracellulært Ca^{2+} -nivå. Vi oppfattet økt funksjon av NCX primært som en kompensatorisk mekanisme for de sviktende hjertecellene, men

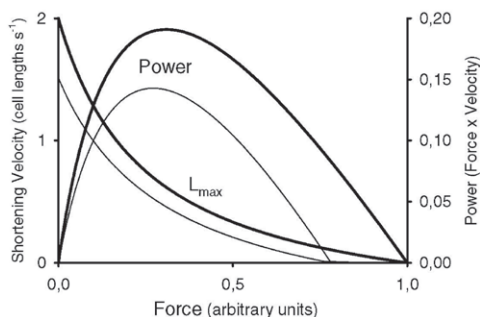
var noe usikre på betydningen av funnet. Litteraturen tydet på at andre kanalproteiner hadde betydelig endret funksjon ved hjertesvikt (3), og i seinere studier (4,5)

undersøkte vi blant annet L-type Ca^{2+} -kanalen og den sarkoendoplasmatiske Ca^{2+} -ATPasen, SERCA. Men selv om dyrene hadde betydelig stuvningssvikt (2), fant vi ikke tegn til redusert kontraksjon eller Ca^{2+} -transient (upublisert) i sviktende myokard. Dette var både overraskende og skuffende.

Ved nærmere analyse av dataene fant vi at kontraktiliteten, og da i form av kontraksjonshastighet og tid til maksimal kontraksjon, var forsinket (4-6). Man har de siste årene erkjent at normal forkortningsgrad, eller normal ejsjonsfraksjon vurdert ved ekkokardiografi, ikke reflekterer viktige egenskaper i myokard slik som kontraktilitet og diastolisk funksjon. Produktet av kontraksjonshastighet, eller *strain rate*, og kraften, gir *power* (figur 2) (7). Det er *power* som



Figur 1. Proteiner og strukturer involvert i eksitasjons-kontraksjons koblingen. Illustrasjonen viser overflatemembranen på en hjertecelle, sarkolemma, og invaginasjonene i denne, t-tubuli. Inne i cella finner vi det sarkoplasmatiske retikulum, SR, som er et kalsium-lager. En depolarisering av cellemembranen gjør at natrium kanaler åpner seg og starter et aksjonspotensial. I t-tubuli er L-type Ca^{2+} -kanalene plassert, og Ca^{2+} -strøm gjennom disse ved depolarisering stimulerer RyR, som er SR Ca^{2+} -frislippkanalen, til å slippe ut Ca^{2+} fra SR i systolen. Ca^{2+} fra SR binder seg til myofilamentene, og cella trekker seg sammen. Cella slapper av igjen når den sarkoendoplasmatiske Ca^{2+} -ATPasen, SERCA, pumper Ca^{2+} tilbake til SR. Noe av Ca^{2+} fjernes fra cytosol gjennom den plasmalemmale Ca^{2+} -ATPasen, PMCA, og NCX, natrium-calcium-ionebytteren. Natrium som akkumuleres i cella pumperes ut gjennom NKA, natrium-kalium-ATPasen. Figur ved Fredrik Swift, IEMF



Figur 2. Hastighets-kraft-kurve med avledet "power"-kurve. Med en gitt inotrop status og strekk vil det være et visst forhold mellom myokards sammentrekningshastighet og utviklet kraft. Hastighets-kraft-produktet gir "power" som er avgjørende for det blodtrykk som kan genereres. Fra *J Physiol* 2003;546:33.

genererer blodtrykket, ikke forkortningsgraden per se. Således vil en redusert kontraksjonshastighet kunne gi betydelig redusert hjertefunksjon.

Vi hadde allikevel ingen umiddelbar forklaring på hvorfor det sviktende myokard utviklet kraft tregere enn det friske. Det kunne skyldes redusert systolisk Ca^{2+} -nivå i cytosol, men vi fant ingen holdepunkter for det i en post-infarkt-musemodell med stuvningssvikt (8,9). Derimot viste det seg at synkronien i Ca^{2+} -frisettingen fra Ca^{2+} -lagrene i hjertecellene, det sarkoplasmatiske retikulum (SR), var redusert i sviktende hjerter (10). Synkron frisetting av Ca^{2+} er en forutsetning for at Ca^{2+} -konsentrasjonen rundt myofilamentene skal øke raskt og jevnt, og derved for at kontraksjonen skal skje raskt. I den første studien (10) var riktignok ikke dyssynkronien særlig uttalt, men den bidro til å forklare den observerte forsinkelsen i kontraksjon i sviktende myokard. Denne studien ble utført på et relativt tidlig stadium i utviklingen av hjertesvikt hos mus, kun 1 uke etter et stort hjerteinfarkt. Vi undersøkte derfor hvorvidt varighet av hjertesvikten påvirket både kontraktiliteten og graden av dyssynkroni. I nye studier fant vi at både myokards kontraktilitet og graden av dyssynkroni var redusert ved kronisk svikt (10 uker) sammenlignet med tidlig fase i hjertesviktutviklingen (11,12) og at dette kunne bidra til myokardiell dekompensasjon.

Grunnlaget for utviklingen av dyssynkron Ca^{2+} -frisetting i hjerteceller kunne både være endret funksjon i Ca^{2+} -håndterende proteiner og remodelering av cellenes struktur. I flere studier har vår gruppe studert reorganiseringen av t-tubuli, invaginasjonene av hjertecellenes overflatemembran. T-tubulus struktur er helt avgjørende for å oppnå nær kontakt mellom overflatemembranen og Ca^{2+} -lagrene i cellene. Vi fant at t-tubulus organiseringen er betydelig endret ved hjertesvikt (10,13), og at det var viktig for den dyssynkron frisettingen av Ca^{2+} i hjertecellen. Dette er et tema vi fortsatt utforsker ved instituttet.

I EK-koblingen er som nevnt en rekke proteiner involvert, både membranbundet og løst inne i cellene. I SR-membranen sitter SERCA som pumper Ca^{2+} tilbake til SR-lagrene i diastolen. Fjerning av Ca^{2+} fra cytosol er helt avgjørende for cellenes, og derved hjertets, diastoliske funksjon. I tidlige studier ved instituttet fant man holdepunkter for at SR-funksjonen var redusert (14). Vi bekreftet seinere at SERCA-aktiviteten var redusert ved hjertesvikt (15). Men detaljerte studier av SERCA-funksjon ble først mulig etter et meget omfattende arbeid ledet av Geir Christensen. De genererte en *knock out*-mus der vi kunne skru av SERCA-funksjon i hjertet på et hvilket som helst tidspunkt i dyrets liv (16,17). Selv om dette er en utfordrende modell å arbeide med (18), har vi ved hjelp av denne metoden gjort flere viktige funn. For eksempel har vi funnet at SR kan opprettholde en betydelig funksjon selv med svært lave nivåer av SERCA, at hjerteceller har en utrolig evne til å mobilisere kompenserende mekanismer ved tap av SERCA, og at Na^{+} -akkumulering potensielt er en viktig dekompensasjonsmekanisme ved terminal hjertesvikt (19).

Elektrisk remodelering og arytmier

I flere studier har vi undersøkt hvordan elektrisk remodelering påvirker hjertecellenes kontraktile egenskaper (12,20,21). Vi har blant annet vist hvordan endringer i aksjonspotensial form kan endre SR Ca^{2+} -innhold og derved påvirke kontraksjonen. Men det er også slik at SR Ca^{2+} -håndtering kan påvirke sannsynligheten for arytmier.

Det har vært kjent at økt SR Ca^{2+} -innhold vil kunne føre til spontant frislipp av Ca^{2+} , og derved DADs ved at Ca^{2+} byttes mot Na^+ gjennom NCX i celledmembranen. Men slikt spontant utslipp av Ca^{2+} er en kompleks prosess som involverer en rekke proteiner i cella. Ved hjertesvikt er det økt risiko for triggede arytmier, og det er i tillegg konsensus om at SERCA-aktiviteten er redusert. Vi vet derimot ikke hvorvidt det er en kausal sammenheng mellom redusert SERCA-nivå og arytmitendens. Dette spørsmålet kan vi studere i SERCA *knock-out*-mus. Vi har derfor induisert utklipping av SERCA-genet og undersøkt musene 6 dager seinere. På det tidspunkt er SERCA-nivåene redusert med ca. 50 %, hvilket er relevant for klinisk hjertesvikt. Vi fant at en reduksjon av SERCA ikke bidrar til økt arytmitendens i hvilesituasjonen (22). Derimot, når dyrene utsettes for β -adrenerg stimulering, får de økt tendens til arytmier (23). Dette kan vi forklare gjennom en endret balanse mellom SERCA-funksjon og funksjon i SR Ca^{2+} frislippskanalen, et funn vi vil utforske videre.

Billedanning og veien videre

Basalt orientert hjerteforskning benytter i dag mange metoder som utfyller hverandre for å oppnå mekanistisk innsikt. En helt sentral gruppe teknikker er knyttet til billedannelse av hjertet *in vivo*. Vi forsker stort sett på patologiske dyremodeller, og da er *in vivo*-teknikker som ekkokardiografi og MR viktige. Ved hjelp av disse metodene kan vi avgjøre grad av hjertesvikt for eksempel ved hjerteinfarkt hos rotter (2,24,25) og mus (8,26), aortastenose hos rotter (27) og mus (28), hos genmodifiserte mus (23), hos griser med hjertestans (29) osv. Disse undersøkelser er helt avgjørende for å kunne stratifisere dyrene i forhold til fenotype, slik at vi kan oppnå et homogent materiale for videre mekanistiske studier. Men selv om slike deskriptive mål for funksjon er svært viktige i studiene våre, etablerer vi for tiden helt nye teknikker innen MR. Ved hjelp av fasekontrast, en teknikk for måling av hastighet i ulike plan, kan vi kartlegge lokal funksjon i det sviktende myokard. Vi kan oppnå opptaksvolumer på 0,05-0,1 mikrometer, og det betyr at vi kan følge de kontraktile egenskapene til det sviktende myokard med meget høy oppløselighet.



Prosessene som ligger bak transisjonen fra normalt til sviktende myokard er for en stor del ukjent. Ved å bruke denne typen avbildningsteknikker kan vi identifisere når den enkelte region svikter og deretter undersøke strukturelle og funksjonelle endringer i disse regionene.

Et sentralt tema for forskningsgruppen vår er mekanismer for transisjon til hjertesvikt. Dette er en kompleks problemstilling som krever et stort miljø som går ut over vår forskningsgruppe, tilgang både til basalt orienterte teknikker og humane pasientkohorter og nasjonale og internasjonale samarbeidspartnere. Fundamentet ved instituttet er meget godt, og vi går en spennende tid i møte.

Referanser

- 1 Wasserstrom JA, Holt E, Sjaastad I, Lunde PK, Ødegaard A, Sejersted OM. Altered E-C coupling in rat ventricular myocytes from failing hearts 6 wk after MI. *Am J Physiol* 2000;279:H798-H807.
- 2 Sjaastad I, Sejersted OM, Illebekk A, Bjornerheim R. Echocardiographic criteria for detection of post-infarction congestive heart failure in rats. *J Appl Physiol* 2000;89:1445-54.
- 3 Gomez AM, Cheng H, Lederer WJ, Bers DM. Ca^{2+} diffusion and sarcoplasmic reticulum transport both contribute to $[Ca^{2+}]_i$ decline during Ca^{2+} sparks in rat ventricular myocytes. *J Physiol (Lond)* 1996;496(Pt 2):575-81.
- 4 Sjaastad I, Bøkenes J, Swift F, Wasserstrom JA, Sejersted OM. Normal contractions triggered by L-type Ca^{2+} -current in ventricular myocytes from rats with post infarction congestive heart failure. *Am J Physiol* 2002 Apr 16;283:H1225-H1236.
- 5 Sjaastad I, Birkeland JA, Ferrier G, Howlett S, Skomedal T, Bjornerheim R, et al. Defective excitation-contraction coupling in hearts of rats with congestive heart failure. *Acta Physiol Scand* 2005;184:45-58.
- 6 Sjaastad I, Schiander I, Sjetnan A, Qvigstad E, Bokenes J, Sandnes D, et al. Increased contribution of α_1 - vs. β -adrenoceptor-mediated inotropic response in rats with congestive heart failure. *Acta Physiol Scand* 2003;177:449-58.
- 7 Sjaastad I, Wasserstrom JA, Sejersted OM. Heart failure - a challenge to our current concepts of excitation-contraction coupling. *J Physiol* 2003;546(Pt 1):33-47.
- 8 Finsen AV, Christensen G, Sjaastad I. Echocardiographic parameters discriminating myocardial infarction with pulmonary congestion from myocardial infarction without congestion in the mouse. *J Appl Physiol* 2005;98:680-9.
- 9 Mork HK, Sjaastad I, Sande JB, Periasamy M, Sejersted OM, Louch WE. Increased cardiomyocyte function and Ca^{2+} transients in mice during early congestive heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2007;43:177-86.
- 10 Louch WE, Mork HK, Sexton J, Stromme TA, Laake P, Sjaastad I, et al. T-tubule disorganization and reduced synchrony of Ca^{2+} release in murine cardiomyocytes following myocardial infarction. *J Physiol* 2006;574(Pt 2):519-33.
- 11 Mork HK, Sjaastad I, Sejersted OM, Louch WE. Slowing of cardiomyocyte Ca^{2+} release and contraction during heart failure progression in postinfarction mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;296:H1069-H1079.
- 12 Louch WE, Hake J, Jolle GF, Mork HK, Sjaastad I, Lines GT, et al. Control of Ca^{2+} release by action potential configuration in normal and failing murine cardiomyocytes. *Biophys J* 2010;99:1377-86.
- 13 Louch WE, Hougen K, Mork HK, Swift F, Aronsen JM, Sjaastad I, et al. Sodium accumulation promotes diastolic dysfunction in end-stage heart failure following Serca2 knockout. *J Physiol* 2010;588(Pt 3):465-78.
- 14 Holt E, Tonnessen T, Lunde PK, Semb SO, Wasserstrom JA, Sejersted OM, et al. Mechanisms of cardiomyocyte dysfunction in heart failure following myocardial infarction in rats. *J Mol Cell Cardiol* 1998;30:1581-93.
- 15 Sande JB, Sjaastad I, Hoen IB, Bokenes J, Tonnessen T, Holt E, et al. Reduced level of serine¹⁶ phosphorylated phospholamban in the failing rat myocardium: a major contributor to reduced SERCA2 activity. *Cardiovasc Res* 2002;53:382-91.
- 16 Andersson KB, Birkeland JA, Finsen AV, Louch WE, Sjaastad I, Wang Y, et al. Moderate heart dysfunction in mice with inducible cardiomyocyte-specific excision of the Serca2 gene. *J Mol Cell Cardiol* 2009;47:180-7.
- 17 Andersson KB, Finsen AV, Sjalund C, Winer LH, Sjaastad I, Odegaard A, et al. Mice carrying a conditional Serca2(flox allele) for the generation of Ca^{2+} handling-deficient mouse models. *Cell Calcium* 2009;46:219-25.
- 18 Hougen K, Aronsen JM, Stokke MK, Enger U, Nygard S, Andersson KB, et al. Cre-loxP DNA recombination is possible with only minimal unspecific transcriptional changes and without cardiomyopathy in Tg(alphaMHC-MerCreMer mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;299:H1671-H1678.
- 19 Louch WE, Hougen K, Mork HK, Swift F, Aronsen JM, Sjaastad I, et al. Sodium accumulation promotes diastolic dysfunction in end-stage heart failure following Serca2 knockout. *J Physiol* 2010;588:465-78.
- 20 Bokenes J, Sjaastad I, Sejersted OM. Artificial contractions triggered by field stimulation of cardiomyocytes. *J Appl Physiol* 2005;98:1712-9.

- 21 Bokenes J, Aronsen JM, Birkeland JA, Henriksen UL, Louch WE, Sjaastad I, et al. Slow contractions characterize failing rat hearts. *Basic Res Cardiol* 2008;103:328-44.
- 22 Stokke MK, Hougen K, Sjaastad I, Louch WE, Briston SJ, Enger UH, et al. Reduced SERCA2 abundance decreases the propensity for Ca²⁺ wave development in ventricular myocytes. *Cardiovasc Res* 2010;86:63-71.
- 23 Stokke MK, Briston SJ, Jolle GF, Manzoor I, Louch WE, Oyehaug L, et al. Ca²⁺ wave probability is determined by the balance between SERCA2-dependent Ca²⁺ reuptake and threshold SR Ca²⁺ content. *Cardiovasc Res* 2011 Jan 17. [Epub ahead of print]
- 24 Qvigstad E, Sjaastad I, Brattelid T, Nunn C, Swift F, Birkeland JA, et al. Dual serotonergic regulation of ventricular contractile force through 5-HT_{2A} and 5-HT₄ receptors induced in the acute failing heart. *Circ Res* 2005 5;97:268-76.
- 25 Birkeland JA, Swift F, Tovsrud N, Enger UH, Lunde PK, Qvigstad E, et al. Serotonin increases L-type Ca²⁺ current and SR Ca²⁺ content through 5-HT₄ receptors in failing rat ventricular cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293:H2367-76.
- 26 Rosjo H, Husberg C, Dahl MB, Stridsberg M, Sjaastad I, Finsen AV, et al. Chromogranin B in heart failure: a putative cardiac biomarker expressed in the failing myocardium. *Circ Heart Fail* 2010;3:503-11.
- 27 Brattelid T, Qvigstad E, Birkeland JA, Swift F, Bekkevold SV, Krobert KA, et al. Serotonin responsiveness through 5-HT_{2A} and 5-HT₄ receptors is differentially regulated in hypertrophic and failing rat cardiac ventricle. *J Mol Cell Cardiol* 2007;43:767-79.
- 28 Bjornstad JL, Sjaastad I, Nygard S, Hasic A, Ahmed MS, Attramadal H, et al. Collagen isoform shift during the early phase of reverse left ventricular remodelling after relief of pressure overload. *Eur Heart J* 2011;32:236-45.
- 29 Tømte O, Sjaastad I, Wik L, Kuzovlev A, Eriksen M, Norseng PA, et al. Discriminating the effect of accelerated compression from accelerated decompression during high-impulse CPR in a porcine model of cardiac arrest. *Resuscitation* 2010;81:488-92. ■