

9

Nederlandse Samenvatting



F.S. de Man^{1,2}, N. Westerhof^{1,2}, A. Vonk-Noordegraaf¹

Departments of ¹Pulmonology and ²Physiology, VU University Medical Center / Institute for Cardiovascular Research, Amsterdam, The Netherlands

Pulmonale Arteriële Hypertensie (PH) is een ziekte van de longen, waarbij schade aan het longvaatbed leidt tot hoge drukken in de longen. De rechter kamer van het hart pompt zuurstof naar de longen waar het van zuurstof wordt voorzien. In PH moet de rechter kamer daarom veel harder werken. Als de rechter hartkamer onvoldoende opgewassen is tegen de verhoogde drukken treedt hartfalen op. Hoewel de oorzaak van overlijden rechter hartfalen is, is er nog geen effectieve therapie om rechter hartfalen te voorkomen of te behandelen. Tevens lijden patiënten aan ernstig verminderde inspanningscapaciteit en een gevoel van chronische adem tekort (dyspnoea). In dit proefschrift hebben we de mechanismen van hartfalen, verminderde inspanningstolerantie en adem te kort onderzocht, en hebben we gekeken of inspanningstraining en behandeling met bètablokkers inspanningscapaciteit en hart falen konden verbeteren.

In **Hoofdstuk 2** hebben we de effecten van inspanningstraining onderzocht in PH. Tot nog toe wordt inspanningstraining in patiënten met PH afgeraden omdat tijdens training de druk in de longen nog verder toeneemt en verwacht wordt dat de rechter hartkamer hier niet tegen opgewassen is. Daarom hebben we in hoofdstuk 2 eerst de effecten van inspanningstraining in een ratmodel voor PH bestudeerd, het monocrotaline (MCT) rat model. Aangezien er aanwijzingen bestonden dat de mogelijkheid van adaptatie van het rechter hart op een toename in druk een belangrijke rol zou kunnen spelen in de respons op inspanningstraining hebben we twee vormen van PH geïnduceerd: een stabiele PH met een behouden rechter hart functie (lage dosis (40 mg/kg) MCT) en een progressieve PH met hartfalen (hoge dosis (60 mg/kg) MCT). Twee weken na injectie met MCT, hadden alle dieren PH ontwikkeld, en werd de training gestart. Deze studie heeft aangetoond dat het effect van inspanningstraining verschillend was in ratten met stabiele PH en progressieve PH. Inspanningstraining was namelijk voordelig in stabiele PH, waarbij het een toename in inspanningscapaciteit bewerkstelligde en een toename van capillairen in de rechter hartkamer induceerde. Inspanningstraining in progressieve PH echter verergerde de ziekte, wat leidde tot een toename in de ontwikkeling van hartfalen en infiltratie van lymfocyten in de rechter hart kamer.

Gesterkt door de positieve effecten van inspanningstraining in stabiele PH, hebben we zoals beschreven in **Hoofdstuk 3** een klinische studie gestart waar we de effecten van inspanningstraining hebben onderzocht in PH patiënten. Hierbij hebben we alleen PH patiënten geïnccludeerd die klinisch stabiel waren en de laatste drie maanden geen verandering hadden in hun medicatie. Uiteindelijk werden 19 patiënten geïnccludeerd in de studie. Zij ondergingen een trainingsprogramma in een revalidatie centrum die binnen 5 kilometer was gelegen van hun woonplaats voor een periode van 12 weken met een frequentie van 3 keer per week. Voor aanvang en na afloop van het trainingsprogramma hebben we van iedere patiënt de maximale en submaximale inspanningscapaciteit en skeletspier functie bepaald in het VU medisch centrum. Tevens hebben we van 12 patiënten ook een skeletspier

biopt kunnen nemen, wat ons de mogelijkheid gaf om ook in detail naar veranderingen in de skeletspier morfologie te kijken. Deze studie heeft aangetoond dat net zoals bij de ratten met stabiele PH, inspanningstraining de inspanningscapaciteit van de PH patiënten significant kon verbeteren. Tevens vonden we een toename in skeletspier functie, welke geassocieerd was met verbeteringen in de zuurstofhuishouding van de skeletspier cellen.

In **Hoofdstuk 4** hebben we verder onderzocht hoe het divergente effect van inspanningstraining in het ratmodel voor stabiele en progressieve PH op rechter hartfunctie verklaard kon worden. De gevonden infiltratie van lymfocyten in de rechter hartkamer kon passen bij een overstimulatie van het sympathische zenuwstelsel gekarakteriseerd met hoge spiegels van catecholamines. Voor linker hartfalen is het beschreven dat hoge spiegels van catecholamines kan leiden tot dysfunctie van de linker hartkamer via veranderingen in myofilament fosforylatie en functie. Daarom hebben we eerst onderzocht of er inderdaad histologisch aanwijzingen waren voor schade aan de rechter hartkamer door hoge spiegels van catecholamines. Hierbij vonden we dat naast de eerder geobserveerde infiltratie van lymfocyten ook macrofagen en granulocyten infiltratie aanwezig was in de rechter hartkamer. Vervolgens hebben we onderzocht of deze veranderingen ook hebben geleid tot veranderingen in myofilament fosforylatie en functie. Het divergente effect van inspanningstraining werd opnieuw geobserveerd in myofilament fosforylatie waarbij de fosforylatie van de myofilament eiwitten troponine I, troponine T and myosine bindend eiwit c was toegenomen in stabiele PH en afgenomen in progressieve PH. Ook hebben we een toename in eiwit fosfatase 1 expressie gevonden in progressieve PH die deels verantwoordelijk kan zijn voor de afname in myofilament fosforylatie. Om de functionele consequentie te onderzoeken van deze wijzigingen in myofilament fosforylatie, hebben we enkele hartspiercellen geïsoleerd uit de rechter hartkamer. Vervolgens hebben van deze hartspiercellen de kracht gemeten die ze konden genereren na incubatie met verschillende calcium concentraties. Een hoge calcium concentratie leidt tot een actieve kracht ontwikkeling wat informatie geeft over de contractie fase van de rechter hartkamer (systolische functie), en bij een lage calcium concentratie leidt tot een passieve kracht ontwikkeling wat informatie geeft over de relaxatie fase en stijfheid van de rechter hartkamer (diastolische functie). We vonden dat inspanningstraining in zowel stabiele als progressieve PH leidde tot een toename in actieve kracht ontwikkeling van de hartspiercellen van de rechter hartkamer. Echter ging dit ten koste van de passieve kracht ontwikkeling in ratten met progressieve PH, wat suggereert dat de hartspiercellen van progressieve PH ratten stijver zijn geworden door inspanningstraining en daardoor problemen hebben tijdens de relaxatie fase van de hartcyclus. In toekomstig onderzoek zullen we nagaan of ook in patiënten met PH en rechter hart falen dezelfde veranderingen zijn opgetreden als hier beschreven.

Aangezien we in het voorgaande hoofdstuk aanwijzingen hebben gekregen dat overstimulatie van het sympathische zenuwstelsel mogelijk een belangrijke rol kan spelen in de ontwikkeling van rechter hart falen in progressieve PH, hebben we in **Hoofdstuk 5** de effecten van bètablokkers onderzocht. Bètablokkers zijn een veelgebruikt medicijn voor de behandeling van patiënten met links hartfalen, en is bewezen effectief te zijn in het onderdrukken van de sympathische zenuwstelsel. Voor patiënten met PH is de behandeling met bètablokkers echter gecontraïndiceerd. De angst bestaat dat PH patiënten het acute cardiale depressieve effect van bètablokkers niet aan kunnen. Deze angst is deels gebaseerd op een tweetal studies die de acute effecten van hoge dosering specifieke bètablokkers hebben bestudeerd. Echter er is zeer weinig bekend over lange termijn effecten van de nieuwere generaties specifieke bètablokkers in PH. Daarom hebben we de lange termijn effecten van een lage gedoseerde hartspecifieke bètablokker (bisoprolol 10 mg) op de ontwikkeling van rechter hartfalen, rechter hartkamer functie en morfologie van de rechter hartkamer bestudeerd. Na 10 dagen (PH vastgesteld dmv echocardiografie) werden de progressieve PH ratten gerandomiseerd naar een "vehicle" of "bisoprolol" groep. Bisoprolol behandeling leidde tot een significant latere ontwikkeling van rechter hartfalen en verbeterde dus mortaliteit van de progressieve PH ratten. Bisoprolol had geen effect op de drukken in de longen, maar kon wel de contractiliteit van het rechter hart verbeteren waardoor bisoprolol de koppeling tussen het vaatbed en hartfunctie gedeeltelijk kon herstellen. Tevens leidde bisoprolol behandeling tot een significante verbetering in relaxatie wat gepaard ging met verlaging van fibrose en inflammatie in de rechter hartkamer. Toekomstig onderzoek zal zich richten op de toepasbaarheid van bisoprolol behandeling in een fase I/II klinische trial.

Recente onderzoeken hebben aangetoond dat ademhalingspier dysfunctie mogelijk een belangrijke rol speelt bij het gevoel van adem tekort in patiënten met PH. Ook zijn er aanwijzingen dat patiënten chronisch lijden aan hyperventilatie. We hadden daarom in **Hoofdstuk 6** de hypothese dat ademhalingspier dysfunctie een gevolg zou kunnen zijn van overactivatie van het diafragma, de belangrijkste inademingspier. Overactiviteit van een spier kan leiden tot veranderingen in contractiele eigenschappen en morfologie van de spier. Aangezien het ethisch niet mogelijk is om diafragma biopten te verkrijgen van patiënten met PH, hebben we diafragma spier dysfunctie onderzocht in ratten met progressieve PH. Met behulp van telemetrie vonden we dat ademhalingsfrequentie significant was toegenomen in progressieve PH. Vervolgens hebben we stripjes van het diafragma geïsoleerd en kracht generatie geanalyseerd. Hierbij zagen we dat de progressieve PH ratten significant minder kracht konden ontwikkelen dan controle ratten. Tevens vonden we histologische aanwijzingen voor aanzienlijke atrofie van de spiercellen wat verder de contractiliteit van het diafragma zou kunnen verminderen. Opmerkelijk was dat de veranderingen in diafragma spier dysfunctie specifiek alleen voorkwam in het diafragma en niet in de skeletspier, wat onze hypothese van ademhalingspier dysfunctie als een gevolg van overactiviteit versterkte. Tevens konden

we onze histologische bevindingen bevestigen in diafragma samples verkregen van 2 PH patiënten die overleden waren aan de gevolgen van PH, waarbij we ook specifieke atrofie van de spiercellen van het diafragma hebben geobserveerd. In toekomstig onderzoek zullen we ons verder richten om het causale verband van overactiviteit en ademhalingspier dysfunctie te onderzoeken door middel van farmacologische interventies.