

VU Research Portal

Striated muscle dysfunction in Pulmonary Arterial Hypertension

Manders, E.

2015

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Manders, E. (2015). *Striated muscle dysfunction in Pulmonary Arterial Hypertension*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

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

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Samenvatting

Pulmonale arteriële hypertensie (PAH) is een zeldzame en dodelijke longziekte waarbij er een hoge bloeddruk ontstaat in de bloedvaten van de longen. Normaal gesproken is de bloeddruk in longen laag, maar verschillende oorzaken, zoals remodelering van de bloedvaten, kan leiden tot een hogere bloeddruk. De rechterhartkamer (rechter ventrikel (RV)) is onderdeel van de longcirculatie en pompt zuurstofarm bloed door de longen zodat er zuurstof opgenomen kan worden, waarna het bloed terugkomt in het linker ventrikel (LV). Bij PAH-patiënten moet het RV harder werken om het bloed tegen de hogere druk in te pompen. Om meer kracht te kunnen leveren worden de spierencellen in het RV dikker. Helaas kan het RV uiteindelijk niet meer tegen de hoge druk in pompen en ontstaat er rechterhartfalen. Dit zorgt voor een afname in de kwaliteit van leven van PAH-patiënten doordat hun inspanningscapaciteit afneemt en zij zich kortademig voelen. Met de huidige behandelingen kan de longbloeddruk wel gedeeltelijk verlaagd worden en kan het ontstaan van hartfalen vertraagd worden, maar volledige genezing is echter nog steeds niet mogelijk. Daarom wordt er ook veel aandacht geschonken aan onderzoek dat zich richt op de verbetering van de inspanningscapaciteit en de kwaliteit van leven.

Eerdere studies hebben laten zien dat de symptomen van PAH-patiënten niet alleen veroorzaakt worden rechterhartfalen. Er zijn aanwijzingen dat het LV en de skeletspieren ook zwakker worden bij PAH-patiënten. Dit kan mede oorzaak zijn van de afname van de inspanningscapaciteit. Het doel van deze thesis is om de onderliggende oorzaak van verzwakking van het LV en skeletspieren te vinden.

De hart- en skeletspieren worden beide dwarsgestreepte spieren genoemd, vanwege hun donkere en lichte strepen die te zien zijn onder een microscoop. Dit patroon wordt veroorzaakt doordat spiercellen zijn opgebouwd uit sarcomeren, het kleinste zich herhalende

onderdeel van een spier wat kan contraheren en zo kracht kan leveren (zie figuur 1.1). Sarcomeren bestaan uit dikke en dunne filamenten. Het dikke filament bestaat vooral uit het eiwit myosine. Het dunne filament bestaat uit actine, een troponine complex en tropomyosine keten, deze laatste twee spelen een belangrijke rol bij de regulatie van spiercontractie. De contractie van spieren wordt veroorzaakt door de afgifte van calcium in de spiercellen. Calcium zorgt ervoor dat tropomyosine van actine afschuift, waardoor myosine koppen zich aan actine eiwitten binden, dit worden kruisbruggen genoemd. Vervolgens kan myosine actine naar zich toetrekken waardoor de spier samentrekt.

De hart- en skeletspieren zijn beide gevoelig voor veranderingen in gebruik en belasting. Het is een bekend fenomeen bij sporters dat krachttraining leidt tot dikkere spieren. Ook kunnen duursporten, zoals wielrennen, leiden tot een dikker en groter hart. Aan de andere kant kan verminderd gebruik juist leiden tot spieraafbraak, wat te zien is bij astronauten die in de ruimte zijn geweest of als er gips wordt verwijderd van een arm/been. Hierbij verandert niet alleen de dikte van de spier, maar kunnen ook veranderingen in de sarcomeren optreden.

Het RV en LV zijn geen op zichzelf staande onderdelen, de functies van beiden hartkamers zijn onherroepelijk met elkaar verbonden. De veranderingen in het RV door de verhoogde longbloeddruk kunnen dus ook leiden tot veranderingen van het LV, bijvoorbeeld doordat het LV minder goed gevuld wordt omdat het RV minder bloed kan pompen naar het LV. Daarnaast beweegt het septum, dat het linker en rechter ventrikel van elkaar scheidt, richting het LV bij PAH-patiënten. Dit kan ervoor zorgen dat de vulling van het LV bemoeilijkt wordt. De veranderingen in LV vulling kunnen de onderliggende oorzaak zijn van de aangetoonde afname in LV-functie.

In **hoofdstuk 2** hebben we gekeken of de verminderde LV-functie in PAH-patiënten veroorzaakt wordt door een afname in spierceloppervlakte en verminderde contractiliteit van de sarcomeren. Hiervoor hebben we biopsies verkregen van het LV van PAH-patiënten en van gezonde donoren. LV hartspiercellen van PAH-patiënten waren 30% dunner ten opzichte van donor LV-hartspiercellen, wat ertoe leidt dat de maximale kracht die de hartspiercellen zou kunnen leveren ook met 30% afneemt. Verder vonden we ook een 30% afname in maximale spanning (kracht per oppervlakte) die LV-hartspiercellen in PAH-patiënten kunnen leveren. Deze afname in spanning wordt waarschijnlijk veroorzaakt door een afname van de hoeveelheid dikke filament eiwit myosine. De combinatie van dunnere hartspiercellen en afname in maximale spanning zorgt ervoor dat de LV-hartspiercellen in totaal ~50% minder kracht kunnen leveren ten opzichte van donoren (zie ook figuur 2.6). De calciumgevoeligheid van de LV-hartspiercellen nam echter toe, waardoor de afname in kracht bij submaximale, fysiologische, calcium concentraties gedeeltelijk gecompenseerd kan worden. Deze resultaten laten zien dat LV-hartspierceldysfunctie kan bijdragen aan de afname in LV functie in PAH-patiënten. Verder denken we dat deze dysfunctie een rol kan spelen bij postoperatieve complicaties die optreden bij PAH-patiënten als ze een longtransplantatie krijgen. Na een longtrans-

plantatie is de bloeddruk in de longen namelijk weer laag, waardoor het RV opeens weer meer bloed naar het LV kan pompen. Het LV, dat zich had aangepast aan een lagere vulling, heeft moeite om met de hogere vulling om te gaan wat kan leiden tot LV falen.

In rust gaat meer dan 20% van de totale hartproductie naar de skeletspieren, dit percentage kan zelfs stijgen naar 84% bij extreme inspanning. Dit laat zien dat de hartfunctie een belangrijke rol speelt bij de inspanningscapaciteit. Aangezien RV en LV functie van PAH-patiënten achteruit gaat, kan dit leiden tot een verminderde zuurstoftoevoer naar de spieren wat mogelijk invloed heeft op skeletspierfunctie. Ook gaan PAH-patiënten hyperventileren tijdens inspanning, maar ook in rust of soms zelfs in hun slaap. Daardoor moet het diafragma, de middenrifspier die een grote rol speelt bij inademing, harder werken. Uiteindelijk kan dit leiden tot overbelasting en verzwakking van het diafragma. Het is inderdaad aangetoond dat de maximale inademingscapaciteit is afgenomen in PAH-patiënten.

Eerdere studies lieten zien dat de diafragmaspiercellen in PH-ratten dunner worden en dat de contractiliteit van het diafragma was afgenomen. In **hoofdstuk 3** hebben we aangetoond dat in deze PH-ratten de ademhalingsfrequentie toeneemt als ze zieker worden. Bovendien hebben we in dit hoofdstuk aangetoond dat de verzwakking van het diafragma voor een gedeelte veroorzaakt wordt door verminderde contractiliteit van de sarcomeren in diafragmaspierzvezels. In PH-ratten was er een afname van 15-25% in maximale spanning gevonden in de snelle spierzvezels. Ook de calciumgevoeligheid in deze diafragmaspierzvezels was afgenomen, waardoor de totale krachtscapaciteit nog verder afneemt bij fysiologische calciumconcentraties. Deze resultaten laten zien dat de verzwakking van het diafragma in PH-ratten veroorzaakt kan zijn door verminderde sarcomeerfunctie van diafragmaspierzvezels.

Aangemoedigd door de bevindingen in **hoofdstuk 3** hebben in **hoofdstuk 4** gekeken of deze veranderingen in de diafragmaspierzvezels ook aanwezig zijn in PAH-patiënten. In deze studie hebben we *in vivo* inademingscapaciteitsmetingen gecombineerd met *ex vivo* metingen aan diafragmaspierzvezels van dezelfde chronische trombo-embolische pulmonale hypertensie (CTEPH) patiënten. Verder hebben we ook het effect bestudeerd van een drug (CK-2066260) dat de calciumgevoeligheid van spierzvezels vergroot. De diafragmaspierzvezels van CTEPH-patiënten waren niet veranderd in dikte, daarentegen was de maximale spanning die de diafragmaspierzvezels konden leveren wel significant afgenomen. Deze afname is waarschijnlijk veroorzaakt door de afname in de hoeveelheid myosine eiwit aanwezig in de spierzvezels. Tevens was de calciumgevoeligheid van diafragmaspierzvezels van CTEPH-patiënten afgenomen. Dit zorgt voor een ~25% afname in submaximale kracht. Met CK-2066260 konden we in snelle spierzvezels de calciumgevoeligheid zodanig verhogen dat de submaximale kracht hoger werd dan in controle diafragmaspierzvezels. Interessant was ook de bevinding dat diafragmaspierzvezelkracht correleerde met de *in vivo* gemeten inademingscapaciteit, wat suggereert dat

de afname van diafragmaspiervezelkracht van belang is voor de afname in inademingscapaciteit. Dit kan dus ook bijdragen aan het gevoel van kortademigheid, aangezien dit veroorzaakt wordt door een onbalans tussen de kracht van het diafragma en het toegenomen gebruik van het diafragma.

Er zijn ook aanwijzingen dat de been- en armspieren van PAH-patiënten zwakker worden. PAH-patiënten geven namelijk aan dat moeheid van benen een reden is om te stoppen met fietsen tijdens een inspanningstest. Er is inderdaad aangetoond dat de maximale beenspierkracht van PAH-patiënten afneemt. De onderliggende oorzaak van deze afname in beenspierkracht is nog niet duidelijk. Sommige studies laten zien dat de spiervezeldikte afneemt en dat er meer snelle spiervezels gevormd worden, maar andere studies zagen deze veranderingen niet. We weten dat de dagelijkse fysieke activiteit van PAH-patiënten afneemt als ze zieker worden en dat een afname in het gebruik van spieren kan leiden tot spierzwakte en sarcomeerdysfunctie. Daarom hebben we in **hoofdstuk 5** onderzocht of de afname in beenspierkracht in PAH-patiënten veroorzaakt wordt door verzwakkingen van de sarcomeren. We hebben hiervoor biopten genomen van de quadriceps (bovenbeenspier) van PAH-patiënten en van gezonde controles. Metingen in de spiervezels lieten zien dat de maximale spanning (kracht per oppervlakte) in PAH-patiënten was afgenomen. Deze wordt wederom waarschijnlijk veroorzaakt door een afname in de hoeveelheid myosine eiwit. De calciumgevoeligheid was niet veranderd, dit draagt dus niet verder bij aan de afname in beenspierkracht. De afname in maximale spanning was echter maar 15% terwijl maximale beenspierkracht was afgenomen met 25-30%. Dit suggereert dat er nog andere veranderingen in de spieren optreden die ook bijdragen aan de afname in beenspierkracht in PAH-patiënten.

Dysfunctie van sarcomeren draagt dus bij aan de verzwakking van het LV, het diafragma en de beenspieren van PAH-patiënten. Deze bevindingen geven aanleiding tot het testen van behandelmethodes die specifiek aangrijpen op de sarcomeren. Hierdoor kan wellicht de inspanningscapaciteit en de kwaliteit van leven van PAH-patiënten verbeterd worden.