

# VU Research Portal

## The effects of smoking and hypoxia on skeletal muscle structure and function

Wust, R.C.I.

2009

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

### **citation for published version (APA)**

Wust, R. C. I. (2009). *The effects of smoking and hypoxia on skeletal muscle structure and function*. [PhD-Thesis – Research external, 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](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

Het doel van dit laatste hoofdstuk is een overzicht te geven van de resultaten die in dit proefschrift beschreven zijn. In dit hoofdstuk zal ook de relevantie van deze resultaten voor patiënten met chronisch obstructief longlijden (COPD) bediscussieerd worden. Het hoofdstuk wordt afgesloten met suggesties voor vervolgonderzoek.

Het belangrijkste doel van het onderzoek dat in dit proefschrift beschreven is was de effecten van roken en hypoxie op de structuur en functie van skeletspieren te bepalen. Roken is de belangrijkste oorzaak van COPD, een ziekte waar spierzwakte en waarschijnlijk vroegtijdige spierversmoedigheid de problemen van de primaire longaandoening ernstig kunnen verergeren. Chronische blootstelling van het spierweefsel aan een lagere zuurstofdruk (hypoxie) is een vaakvoorkomend verschijnsel bij patiënten met COPD en zou daardoor een factor kunnen zijn die bijdraagt aan de spieratrofie en spier-disfunctie.

In de eerste drie hoofdstukken worden de resultaten beschreven van de studies naar de spierfunctie van gezonde rokers, die nog geen symptomen van chronisch longfalen hebben. Geen verschillen werden er gevonden in de maximale kracht of spiermassa tussen de rokers en hun niet-rokende leeftijdsgenoten. Echter, een verhoogde spieerversmoedigheid werd gevonden in de rokers. Omdat er ook verschillen in de weerstand tegen vermoeidheid werden gevonden tussen mannen en vrouwen, was net nodig deze verschillen eerst te begrijpen.

In **hoofdstuk 2** hebben we een test ontwikkeld die met behulp van elektrische stimulatie specifiek de perifere spierversmoedigheid meet (2 minuten, 30 Hz met een duty cycle van 0.5; 1 s aan, 1 s uit), waarbij vergelijkingen gemaakt kunnen worden tussen individuen welke niet beïnvloed worden door eventuele verschillen in motivatie. Omdat de elektrische stimulatie geen gebruik maakt van de centrale motivatie en voorkomt dat het centrale element van het ontstaan van vermoeidheid de resultaten beïnvloedt, kunnen de gevonden verschillen toegewezen worden aan factoren distaal van de motoneuron. We vonden dat vrouwen over het algemeen meer weerstand tegen vermoeidheid hadden dan mannen en dat dit fenomeen niet gerelateerd was aan verschillen in spiergrootte. Wanneer de bloedtoevoer naar de spier geblokkeerd werd (en dus ook het verbruik van zuurstof), waren vrouwen nog steeds minder vatbaar voor vermoeidheid, wat een efficiëntere spiercontractie impliceert. Dit en de tragere contractiele eigenschappen van spieren van vrouwen ten opzichte van die van mannen, suggereert dat vrouwen een hoger percentage langzamere spiervezels hebben, welke efficiënter zijn tijdens isometrische

## ***Samenvatting en discussie***

---

contracties. Er was geen verschil tussen jonge en oude proefpersonen wat erop duidt dat leeftijd geen directe invloed heeft op de spiervermoeidheid.

De resultaten beschreven in **hoofdstuk 3** laten zien dat jonge mannen met een rokersverleden van 2.5 (3.1) pack years (= 1 pakje per dag gedurende 2.5 jaar) minder resistent tegen vermoeidheid waren (met hetzelfde protocol als beschreven in **hoofdstuk 2**) dan niet-rokers met een overeenkomstige leeftijd en fysieke activiteit. Omdat er geen verschil gevonden werd tussen deze twee groepen in de contractiele eigenschappen, concluderen we dat een eventueel verschil in vezelsamenstelling het verschil in vermoeidheid niet kan verklaren.

De afname van maximale kracht en omvang van de bovenbeenspier tijdens veroudering wordt niet versneld in rokers met overeenkomstige fysieke activiteit. Ook de spiervermoeidheid was niet gerelateerd aan de duur van het roken, zoals bleek uit de vergelijking van de spiervermoeidheid in een cohort van rokers met een grote range van leeftijd en rokersverleden (**hoofdstuk 4**). Dit geeft aan dat de hogere vermoeidheid in de rokers niet noodzakelijkerwijs gerelateerd is aan de dosis, maar waarschijnlijk meer aan de acute, en mogelijke omkeerbare, achteruitgang in de zuurstoftoevoer naar de spier en/of de mogelijkheid tot het gebruik van zuurstof voor aerobe stofwisseling.

In de **hoofdstukken 5, 6 en 7** zijn histologische methoden toegepast om de oxidatieve capaciteit en de capillarisatie van individuele spiercellen te onderzoeken in rokers en niet-rokers en in ratten na chronische hypoxie. Op deze wijze kan een beter inzicht verkregen worden in de aanpassingen in het transport van zuurstof naar en het verbruik van zuurstof in de spier en of veranderingen hierin de onderliggende oorzaak kunnen zijn van de verlaagde weerstand tegen vermoeidheid in de rokers. Over het algemeen wordt aangenomen dat de capillarisatie van individuele spiervezels gerelateerd is aan de oxidatieve capaciteit van de cel. De resultaten van de cross-sectionele studie beschreven in **hoofdstuk 5**, waarbij zowel spieren van ratten als mensen onderzocht zijn, duiden er echter op dat de grootte en het type van de spiervezel een betere indicatie zijn voor de capillarisatie van de spiervezel dan de oxidatieve capaciteit (bepaald aan de hand van de succinaat dehydrogenase (SDH) activiteit).

Met behulp van dezelfde methoden als in **hoofdstuk 5** werd in **hoofdstuk 6** de hypothese getest dat de oxidatieve capaciteit en capillarisatie van de m. vastus lateralis van rokers verlaagd zou zijn t.o.v. niet-rokers. Het bleek dat de oxidatieve capaciteit en capillarisatie niet verschilden tussen beide groepen. De significante relatie tussen SDH activiteit en mate van spiervermoeidheid in de niet-rokers, was

verdwenen in de rokers. Dit bevestigt ons eerder idee dat er sprake is van een acuut en mogelijk reversibel effect van roken op de zuurstoftoevoer naar en/of het zuurstofverbruik van de spier bij de rokers omdat deze gegevens laten zien dat de toegenomen spiervermoeidheid niet verklaard kan worden door morfologische aanpassingen van de spiervezels en/of microcirculatie.

De effecten van chronische blootstelling van ratten aan hypobare hypoxie op determinanten van zuurstoftoevoer en -verbruik in de spier worden beschreven in **hoofdstuk 7**. De resultaten laten zien dat chronische hypoxie tot een regio- en niet een vezeltype-afhankelijke aanpassing van de m. plantaris van de rat leidt. Alhoewel hypoxie tot spieratrofie in beide regio's van de spier leidde, trad uitbreiding van het capillaire netwerk alleen op in het diepe, oxidatieve gedeelte, terwijl alleen in de oppervlakkige, glycolytische regio mitochondriële biogenese optrad. Modelberekeningen lieten zien dat de potentiële impact van deze aanpassingen de aanwezigheid van anoxische gebieden in het diepe gedeelte verhinderde, terwijl de wefelseloxigenatie in het oppervlakkige gedeelte problematischer werd tijdens hypoxie. De ogenschijnlijk tegenstrijdige toename in oxidatieve capaciteit in de oppervlakkige regio van de spier is mogelijk het resultaat van een trainingseffect, dat veroorzaakt werd door een hogere spiervezelrecrutering in deze regio. De implicatie voor patiënten met COPD is dat sommige spieren, of spierregio's, afhankelijk van hun spiervezelsamenstelling, meer of minder beïnvloed kunnen worden door hypoxie. Daarnaast wijzen deze resultaten erop dat chronische hypoxie bijdraagt aan de spieratrofie in deze patiëntengroep.

### ***Relevantie en toekomstig onderzoek***

In **hoofdstuk 1** wordt aangegeven dat patiënten met COPD over het algemeen lijden aan een grotere mate van vermoeidheid en spierzwakte dan gezonde leeftijdsgenoten. De etiologie van deze verminderde functie van de skeletspieren en hoe deze relateert aan een lagere inspanningstolerantie is niet volledig bekend. De resultaten, die in dit proefschrift beschreven zijn, laten zien dat roken en hypoxie een bijdrage kunnen leveren aan de hogere perifere spiervermoeidheid en spierzwakte in patiënten met COPD.

In **hoofdstuk 3 en 4** wordt data gepresenteerd die aangeven dat rokers zonder klinische symptomen van COPD (onomkeerbare luchtstroom beperking) een grotere spiervermoeidheid ervaren dan niet-rokers. De cross-sectionele studie in **hoofdstuk 4** in een groot cohort van rokers laat zien dat deze lagere weerstand tegen vermoeidheid niet beïnvloed wordt door de duur van roken. Dit impliceert dat roken de vermoeidheid niet in een dosis-afhankelijke manier aantast. Hoewel we

## Samenvatting en discussie

---

voor beperkte uitademingscapaciteit, een belangrijk diagnostisch criterium voor COPD, gecheckt hebben, weten we niet of dit cohort van rokers COPD zal ontwikkelen in de toekomst. Om daar meer inzicht in te krijgen is een longitudinale studie waarin rokers gedurende vele jaren gevolgd worden van groot belang. Een dergelijke studie is echter moeilijk realiseerbaar.

Het mogelijke onderliggende mechanisme leidend tot een lagere weerstand tegen vermoeidheid bij rokers wordt bediscussieerd in **hoofdstuk 4 en 6**. Samenvattend kan worden gesteld dat de potentiële toxische effecten van sigarettenrook op functioneren van hemoglobine, myoglobine, epitheel cellen en mitochondriën leiden tot een lagere zuurstoftoevoer naar en/of lager zuurstofverbruik van de spiervezel. Dat dit inderdaad het geval kan zijn, wordt ondersteund door de observatie dat niet-rokers, blootgesteld aan koolstofmonoxide (CO) totdat 6 % van hun hemoglobine verzadigd was met CO, ook een verlaagde weerstand tegen vermoeidheid hadden (Morse *et al.*, 2008).

Door het toepassen van elektrische spierstimulatie wordt elke verandering in vezelrecrutering en vrijwillige activatie uitgesloten, zodat de contractiele eigenschappen en de vermoeidheid van de spier in detail beschreven kunnen worden. Dergelijke studies worden niet vaak beschreven in de literatuur, maar zijn in het verleden succesvol toegepast bij patiënten met gevorderde COPD (Degens *et al.*, 2005; Swallow *et al.*, 2007). Echter, met een vergelijkbare intensiteit en duty cycle werd in de ene studie gevonden dat patiënten met COPD een lagere weerstand tegen vermoeidheid hadden (Swallow *et al.*, 2007), terwijl de andere studie geen verschil in weerstand tegen vermoeidheid vond tussen COPD patiënten en gezonde proefpersonen (Degens *et al.*, 2005). Het verschil tussen deze studies kan mogelijk verklaard worden door een lagere fysieke activiteit in de COPD patiënten in de studie van Swallow *et al.* (2007), terwijl in de studie van Degens *et al.* (2005) de patiënten een vergelijkbare dagelijkse fysieke activiteit hadden als de gezonde proefpersonen. Het feit dat fysieke activiteit een rol speelt in de weerstand tegen vermoeidheid wordt ondersteund door de positieve relatie tussen deze twee factoren, zoals ook beschreven in hoofdstuk 6 en de appendix. Omdat de resultaten in dit proefschrift erop wijzen dat roken de zuurstoftoevoer naar en/of het -verbruik in de spier kan belemmeren, is het belangrijk met het rookgedrag rekening te houden. Het is daarom frappant te zien dat er in de meeste studies over inspanningstolerantie bij COPD patiënten niets over het actuele rookgedrag gemeld wordt. In dit verband is het interessant te melden dat alle patiënten met COPD getest door Degens *et al.* (2005) waren gestopt met roken op het moment van testen (H. Degens, persoonlijke communicatie). Zolang deze karakteristieken van patiënten niet genoemd worden in toekomstige experimenten kunnen eenduidige conclusies met betrekking tot de rol van roken in het ontstaan van vermoeidheid bij COPD patiënten niet getrokken worden.

Een kleine mate van spieratrofie (vezeloppervlak; FCSA) werd gevonden bij een kleine groep rokers waarbij een spierbiopsie was afgenomen, ondanks dat het anatomische cross-sectionele oppervlak (ASCA) van de hele m. quadriceps femoris niet verschillend was van die van niet-rokers. De verklaring voor dit verschil is niet bekend, maar kan wellicht worden toegeschreven aan de grote gevoeligheid van de histologische bepaling van vezelgrootte in vergelijking met de bepaling van de ASCA met behulp van MRI. Recent is aangetoond dat rokers zonder COPD een lagere FCSA in de type I vezels hebben dan niet-rokers (Montes de Oca *et al.*, 2008). Het is echter onduidelijk tot op welke hoogte deze resultaten verklaard kunnen worden door een fysiek actievare controlegroep (Wagner, 2008; Wüst *et al.*, 2008). De lagere snelheid van eiwitsynthese in de spier van rokers zou een verklaring kunnen zijn voor de spieratrofie in rokers (Petersen *et al.*, 2007).

De hogere spierversmoedigheid in rokers was niet gerelateerd aan een groter rookvolume per dag of leeftijd. Het is daarom onwaarschijnlijk dat de progressie van de lagere inspanningstolerantie en verminderde spierfunctie met de progressie van COPD verklaarbaar is door het roken op zich. Andere factoren, zoals een verminderde fysieke activiteit, een chronische ontstekingsreactie, medicatie, zuurstofradicalen en/of hypoxie zullen hoogstwaarschijnlijk een bijdrage leveren (Wüst & Degens, 2007). In **hoofdstuk 7** wordt aangetoond dat ratten die blootgesteld zijn aan vier weken hypoxie (~5000 m) 10% spieratrofie vertonen. Dit suggereert dat hypoxie inderdaad een bijdrage kan leveren aan de spieratrofie in COPD patiënten.

In het licht van verhoogde ontstekingsfactoren in de bloedbaan bij COPD patiënten, moet worden aangetekend dat cytokines niet alleen leiden tot spieratrofie (Langen *et al.*, 2006), maar dat ze ook bijdragen aan centrale fenomenen zoals 'sickness behaviour', verminderde voedselinname en verlies van motivatie. Deze factoren kunnen bijdragen aan algemene vermoeidheid en de neerwaartse spiraal van fysieke activiteit (Spath-Schwalbe *et al.*, 1998). Het is bijvoorbeeld aangetoond dat toediening van interleukine-6 (IL-6; een cytokine) aan gezonde proefpersonen tot een directe afname in prestatie leidt (Robson-Ansley *et al.*, 2004), wat waarschijnlijk verklaard kan worden via een aangepaste (serotonerge) hersenactiviteit die leidt tot een verhoogde sensatie van algemene vermoeidheid en niet door veranderingen in perifere factoren (Polkey, 2003).

Uit de resultaten beschreven in **hoofdstuk 2, 3 en 4** kan geconcludeerd worden dat wanneer contractiele eigenschappen en spierversmoedigheid gemeten worden in patiënten met COPD, het van belang is factoren zoals fysieke activiteit, geslacht en rookgedrag mee te nemen om de variatie tussen experimentele groepen te verkleinen en verkeerde conclusies te voorkomen. Daarnaast leidt hypoxie niet tot

## **Samenvatting en discussie**

---

een uniforme aanpassing van het skeletspierweefsel, waardoor het onmogelijk is veranderingen in oxidatieve capaciteit of capillarisatie te relateren aan een verlaagde zuurstofspanning in de bloedbaan van patiënten met COPD.

Toekomstig onderzoek zal gericht moeten worden op het mechanisme welke ten grondslag ligt aan de verlaagde perifere spiervermoeidheid in de rokers. Het zou interessant zijn te onderzoeken of, en in welke mate, de vermoeibaarheid verandert als rokers stoppen met hun verslaving. Hoewel dit proefschrift geen direct antwoord geeft op de vraag waarom patiënten met COPD een lagere spiermassa hebben en een verhoogde vermoeidheid ervaren, blijkt uit dit proefschrift dat de rookverslaving, hypoxie en de fysieke activiteit belangrijke factoren zijn. In de toekomst zullen de relatieve bijdrage van deze factoren (en andere) onderzocht moeten worden om tot een integratieve theorie over spiervermoeidheid en spierzwakte bij deze patiëntengroep te komen.

## **Referenties**

- Degens H, Sanchez Horneros JM, Heijdra YF, Dekhuijzen PN & Hopman MT (2005). Skeletal muscle contractility is preserved in COPD patients with normal fat-free mass. *Acta Physiol Scand* **184**, 235-242.
- Feenstra TL, van Genugten ML, Hoogenveen RT, Wouters EF & Rutten-van Molken MP (2001). The impact of aging and smoking on the future burden of chronic obstructive pulmonary disease: a model analysis in the Netherlands. *Am J Respir Crit Care Med* **164**, 590-596.
- Langen RC, Schols AM, Kelders MC, van der Velden JL, Wouters EF & Janssen-Heininger YM (2006). Muscle wasting and impaired muscle regeneration in a murine model of chronic pulmonary inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* **35**, 689-696.
- Montes de Oca M, Loeb E, Torres SH, De Sanctis J, Hernandez N & Talamo C (2008). Peripheral muscle alterations in non-COPD smokers. *Chest* **133**, 13-18.
- Morse CI, Pritchard LJ, Wüst RCI, Jones DA & Degens H (2008). Carbon monoxide inhalation reduces skeletal muscle fatigue resistance. *Acta Physiol* **192**, 397-401.
- Petersen AM, Magkos F, Atherton P, Selby A, Smith K, Rennie MJ, Pedersen BK & Mittendorfer B (2007). Smoking impairs muscle protein synthesis and increases the expression of myostatin and MAFbx in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **293**, E848-848.
- Polkey MI (2003). Peripheral muscle weakness in COPD: where does it come from? *Thorax* **58**, 741-742.
- Robson-Ansley PJ, de Milander L, Collins M & Noakes TD (2004). Acute interleukin-6 administration impairs athletic performance in healthy, trained male runners. *Can J Appl Physiol* **29**, 411-418.

- Spath-Schwalbe E, Hansen K, Schmidt F, Schrezenmeier H, Marshall L, Burger K, Fehm HL & Born J (1998). Acute effects of recombinant human interleukin-6 on endocrine and central nervous sleep functions in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* **83**, 1573-1579.
- Swallow EB, Gosker HR, Ward KA, Moore AJ, Dayer MJ, Hopkinson NS, Schols AM, Moxham J & Polkey MI (2007). A novel technique for nonvolitional assessment of quadriceps muscle endurance in humans. *J Appl Physiol* **103**, 739-746.
- Van Vliet M, Spruit MA, Verleden G, Kasran A, Van Herck E, Pitta F, Bouillon R & Decramer M (2005). Hypogonadism, quadriceps weakness, and exercise intolerance in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* **172**, 1105-1111.
- Wagner PD (2008). Cigarette smoking and the skeletal muscles. *Chest* **133**, 3-4.
- Wüst RCI & Degens H (2007). Factors contributing to muscle wasting and dysfunction in COPD patients. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* **2**, 289-300.
- Wüst RCI, Degens H & Jones DA (2008). Muscle function in smokers: clearing up the smoke. *Chest* **134**, 219-220.