



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### Anesthetic induced cardioprotection: from bench to bedside and retour

Frässdorf, J.

**Publication date**  
2012

[Link to publication](#)

#### **Citation for published version (APA):**

Frässdorf, J. (2012). *Anesthetic induced cardioprotection: from bench to bedside and retour*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam]. Boxpress.

#### **General rights**

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

#### **Disclaimer/Complaints regulations**

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

---

## Chapter 3: Nederlandse samenvatting

*Jan Fräβdorf*

---

In dit proefschrift onderzochten we de invloed van narcosemiddelen (anesthetica) op de gevolgen van zuurstoftekort in het hart (myocardiale ischemie-reperfusie schade). Voornaamst aandachtspunt is de invloed van anesthetica op de bescherming van het hart door preconditionering. Naast het beschrijven dat anesthetica bescherming kunnen bieden aan het hart (cardioprotectie) via inductie van preconditionering, hebben wij ook het onderliggende mechanisme onderzocht.

Preconditionering werd voor het eerst beschreven door Murry et al. in 1986. In 1997 werd door Kersten et al. beschreven dat isofluraan vroege preconditionering kan induceren. Sindsdien is er overweldigend bewijs dat bijna alle anesthetica cardioprotectie kunnen induceren via preconditionering of postconditionering. Preconditionering kent twee fasen: de vroege en de late preconditionering. Bij de vroege fase kan onmiddellijk na de stimulus een cardioprotectie aangetoond worden. Deze bescherming is voor een uur of 3 aantoonbaar. Na een protectievrij interval van ca. 24 uur is er opnieuw een protectie aantoonbaar. Dit fenomeen wordt late preconditionering genoemd. Bij de late fase is er dus sprake van een beginfase (triggerfase) en een bemidelaar (mediator) fase.

Echter, niet elk middel dat wordt gebruikt voor het inleiden of in stand houden van anesthesie is in staat om cardioprotectie te induceren. Ketamine, met name de R-enantiomeer blokkeert de preconditionering, terwijl lachgas geen effect op de preconditionering heeft. De invloed van narcose op ischemie-reperfusieschade is in detail besproken in het overzichtsartikel in deel I hoofdstuk 2 van dit proefschrift.

Deel II van dit proefschrift behandelt de invloed van de opioïd-receptor op preconditionering. Voor experimentele, selectieve opioïd-receptor-agonisten, is aangetoond dat zij de vroege en late preconditionering kunnen induceren. In hoofdstuk 1 van deel II hebben we aangetoond dat de klinisch wijdverbreid gebruikte onspecifieke opioïd-receptor-agonist morfine late preconditionering bij rattenharten in vivo induceert. De behandeling met morfine leidt tot een toename van de fosforylering van het inhiberende (remmende) proteïne  $\kappa B$  en aansluitend tot een toename van de activiteit van de nucleaire transcriptiefactor  $\kappa B$ . Dit duidt erop dat deze belangrijke transcriptiefactor in morfine-geïnduceerde late preconditionering betrokken is. In deze studie hebben wij lipopolysaccharide van *Escherichia coli* (LPS) als positieve controle gebruikt. Het

---

blokken van opioïd-receptoren met de onspecifieke antagonist naloxon tijdens de beginfase van de LPS-geïnduceerde cardioprotectie blokkeert deze volledig. Co-behandeling met naloxon tijdens de mediator fase, kort voor de aanhoudende ischemie, had geen invloed op LPS-geïnduceerde protectie. Zo kunnen we concluderen dat het endogene opioïde systeem op zijn minst betrokken is bij de LPS-geïnduceerde late preconditionering.

Sinds het begin van het onderzoek naar preconditionering was men op zoek naar het onderliggende mechanisme. Dit is van het allergrootste belang om te begrijpen hoe preconditionering werkt, en waarschijnlijk nog belangrijker om te begrijpen welke klinische omstandigheden interfereren met dit fenomeen. Na decennia van onderzoek is er nog steeds geen antwoord op de vraag wat de eind-effector van preconditionering is. Eén van de laatste kandidaten is de mitochondriale permeabiliteit transitie porie (mPTP). In hoofdstuk 2 van deel II hebben we specifiek onderzocht of dit mPTP betrokken is bij morfine geïnduceerde vroege preconditionering bij rattenharten in vitro. Echter, bij het uitvoeren van de experimenten waren wij niet in staat om cardioprotectie te bereiken door morfine-geïnduceerde preconditionering in ons Langendorff-model bij het L.E.I.C.A. (Laboratorium voor Experimentele Anesthesiologie en Intensive Care) in het AMC in Amsterdam, terwijl we dit in ons laboratorium aan de Heinrich-Heine-Universiteit in Düsseldorf wél konden. Na intensieve besprekingen vonden we dat er een klein, maar belangrijk verschil bestond in het mengsel van de Krebs-Henseleit buffer dat in de twee laboratoria in gebruik was. De Amsterdamse buffer bevat glutamine, in tegenstelling tot de buffer in Düsseldorf. Wij zagen ons genoodzaakt het doel van het onderzoek aan te passen. Glutamine, toegevoegd aan de Krebs-Henseleit buffer blokkeert volledig morfine-geïnduceerde preconditionering. Dit resultaat laat zien, dat kleine details soms van groot belang kunnen zijn.

Lange tijd is het ATP-gevoelige kaliumkanaal aangezien als de eind-effector van preconditionering. Echter, tegenwoordig weten we dat dit slechts één van de kanalen is die betrokken zijn bij de signaaltransductie van preconditionering. Een ander belangrijk kanaal dat betrokken is bij preconditionering is het mitochondriale calcium-gevoelige kalium-kanaal (BKCa). In hoofdstuk 3 van deel II hebben we onderzocht of deze kanalen zijn betrokken bij morfine-geïnduceerde vroege preconditionering bij rattenharten in vitro. Hier, in de af-

---

wezigheid van glutamine, konden we aantonen dat BKCa-kanalen betrokken zijn bij de morfine-geïnduceerde vroege preconditionering.

Concluderend, het klinisch vaak gebruikte opioïd morfine is in staat om de vroege en late preconditionering te induceren. Opiaatreceptoren zijn bij deze cardioprotectie niet alleen betrokken door middel van directe stimulatie door morfine, maar ook in geval van LPS-geïnduceerde late preconditionering. Endogene liganden van deze receptoren zijn betrokken in de triggerfase. Morfine induceert de activering van de transcriptiefactor NFκB, dit zou het tijdsverloop van de late preconditionering kunnen verklaren. Stroomafwaarts in de signaleringsroute zijn BKCa-kanalen bij de vroege preconditionering in vitro betrokken. De experimentele condities dienen echter altijd mede te worden beoordeeld bij de interpretatie van onderzoeksresultaten.

In deel III van dit proefschrift wordt een aantal mechanismen van door anesthetica geïnduceerde preconditionering besproken. Radicale zuurstof moleculen (ROS) worden ervan verdacht dat ze verantwoordelijk zijn voor een deel van de schade die veroorzaakt wordt door reperfusie van ischemisch hartweefsel. Echter, in hoofdstuk 1 van deel III, konden we aantonen dat ten minste kleine hoeveelheden ROS centraal betrokken zijn bij het signaleren van door isofluraan geïnduceerde vroege preconditionering. Naast directe schade aan het myocard kan ook endotheliale schade ontstaan tijdens ischemie en reperfusie. Gevolg van deze endotheelschade is dat interacties kunnen optreden tussen het endotheel en het bloed die leiden tot aantrekking van leukocyten en het vrijkomen van pro-inflammatoire cytokines. Tumor necrose factor (TNF)  $\alpha$  is één van deze cytokines en een bekende sterke activator van cel-adhesiemoleculen (CAM), zoals intracellulaire adhesiemoleculen-1, vasculaire adhesiemoleculen-1 en E-selectine. De expressie van deze CAM wordt geregeld door NFκB. In hoofdstuk 2 van deel III hebben wij de hypothese getest dat verschillende anesthetica zoals xenon, isofluraan, lachgas en de pijnstillers morfine in staat zijn om de TNF- $\alpha$  geïnduceerde expressie van deze CAM te voorkómen. Alle vier geteste middelen blokkeren de TNF- $\alpha$  geïnduceerde expressie van intracellulaire adhesiemoleculen-1. Echter, morfine heeft geen invloed op de vasculaire adhesiemoleculen-1-expressie, terwijl de anesthetica (xenon, isofluraan en lachgas) deze wel remmen. Geen van de onderzochte middelen

---

heeft een negatieve invloed gehad op E-selectine. NFκB activering werd geremd door alle vier geteste geneesmiddelen.

Zoals al eerder gezegd, het inert edelgas xenon heeft anesthesische eigenschappen. Xenon zou het ideale anestheticum voor de cardiaal gecompromitteerde patiënt kunnen zijn vanwege de te verwaarlozen hemodynamische bijwerkingen. In hoofdstuk 3 van deel III hebben we kunnen aantonen dat xenon late preconditionering in ratten in vivo induceert. Het cardioprotectieve effect was vergelijkbaar met dat, veroorzaakt door ischemische late preconditionering. Als een stap in de signaalcascade is cyclooxygenase-2 geïdentificeerd. Functionele blokkade van dit enzym leidt tot een volledige blokkade van xenon en ischemie-geïnduceerde late conditionering. Echter, alleen ischemische late preconditionering induceert cyclooxygenase-2 op messenger-RNA en eiwitniveau. Deze resultaten tonen aan dat er verschillende patronen in de signalering van ischemische en xenon-geïnduceerde late preconditionering zijn.

Zoals vermeld in hoofdstuk 2 van deel III is lachgas in staat om CAM te remmen. In hoofdstuk 4/ deel III onderzochten we het effect van lachgas op de preconditionering. Lachgas zelf was niet in staat om preconditionering te induceren. Het is dus het enige vluchtige anestheticum zonder de mogelijkheid om deze krachtige cardioprotectie te induceren. Aan de andere kant interfereert het niet met isofluraan-geïnduceerde preconditionering en één van de cruciale signaleringsstappen, de activering van proteïne kinase C.

Met het experimentele bewijs van andere laboratoria en onze eigen onderzoeksresultaten hebben we geprobeerd om de veelbelovende resultaten van dierproeven te vertalen naar de klinische setting (deel IV). In hoofdstuk 1 van deze sectie worden de resultaten van onze klinische studie beschreven. Het meeste klinische preconditioneringsonderzoek is uitgevoerd bij patiënten die een coronaire bypassoperatie (CABG) ondergaan. We testten verschillende preconditioneringsprotocollen en konden aantonen dat het concept van anesthetica-geïnduceerde preconditionering bij patiënten, die een CABG procedure ondergaan, werkt. Uit onze resultaten blijkt dat twee stimuli nodig zijn om cardioprotectie te induceren door anesthetica-geïnduceerde preconditionering.

Uit klinische studies bleek dat preconditionering niet zo eenvoudig te induceren is als in het dierexperimentele setting. In deel V van dit proefschrift hebben wij

---

deze onbeantwoorde klinische vragen met nieuwe experimentele protocollen benaderd.

Het meeste onderzoek werd gedaan in jonge, gezonde dieren. Zoals hierboven vermeld zijn BKCa-kanalen betrokken bij de signaaltransductie van preconditionering. In hoofdstuk 1 van deel V hebben we aangetoond dat de leeftijd een invloed heeft op de mitochondriale respiratie en dat dit te wijten is aan veranderingen in de activiteit van BKCa.

Diabetes mellitus is één van de risicofactoren voor de ontwikkeling van coronaire hartziekte. Het is bekend dat diabetes mellitus preconditionering onmogelijk maakt. Het onderliggende mechanisme is niet duidelijk. In hoofdstuk 2, deel V hebben we de interactie onderzocht van diabetes mellitus met verschillende kinases, waarvan bekend is dat die betrokken zijn bij de signaaltransductie van preconditionering. Hier konden we aantonen dat door diabetes mellitus de ischemische preconditionering geblokkeerd wordt. We konden echter niet ontdekken dat de door ons onderzochte mitogeen geactiveerde proteïne kinases of heat shock protein 27 minder gefosforyleerd worden. Daarom concluderen we dat ischemische preconditionering door diabetes mellitus in de signaaltransductie keten achter de mitogeen geactiveerd proteïne kinases en heat shock protein 27 in ratten in vivo geblokkeerd wordt.

Na bestudering van de resultaten van onze klinische studie in hoofdstuk 1/deel IV vroegen we ons af waardoor wij wel een cardioprotectie in onze studiepopulatie waargenomen hebben en andere onderzoeksgroepen niet. We hebben toen twee grote verschillen ten opzicht van andere onderzoeken geïdentificeerd: het preconditioneringsprotocol en het feit dat onze patiënten niet werden behandeld met aprotinine. Wij hebben vervolgens een dierexperimentele studie opgezet om twee vragen te beantwoorden: 1) welke invloed heeft het preconditioneringsprotocol op de cardioprotectie en 2) heeft aprotinine een invloed op preconditionering. In hoofdstuk 3, deel V worden de antwoorden gegeven. Vergeleken met één cyclus leiden meerdere cycli preconditionering tot een sterkere bescherming. Aprotinine, dat gebruikt werd in CABG-procedures om bloeden te voorkomen, heft de anesthetica-geïnduceerde preconditionering volledig op, onafhankelijk van het gekozen protocol. Daarnaast hebben we aangetoond dat endotheliale stikstofoxidesynthetase betrokken is

---

bij de anesthetica-geïnduceerde preconditionering en de blokkade hiervan door aprotinine.