

University of Groningen

Biomarkers of Lung Injury in Cardiothoracic Surgery

Engels, Gerwin

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2017

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Engels, G. (2017). *Biomarkers of Lung Injury in Cardiothoracic Surgery*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, 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), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

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.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

CHAPTER 8

Nederlandse samenvatting voor niet-ingewijden

In Nederland, net als in andere ontwikkelde landen, zijn hart- en vaatziekten één van de voornaamste oorzaken van hoge ziekte- en sterftcijfers. Bepaalde hart- en vaatziekten kunnen leiden tot atherosclerotische vernauwingen (aderverkalking) in de kransslagader, die de bloedtoevoer naar het hart gedeeltelijk of volledig blokkeren. De verslechterde bloedtoevoer kan hersteld worden met behulp van een dotterbehandeling, al dan niet in combinatie met het plaatsen van een stent, of met behulp van een bypassoperatie van de desbetreffende kransslagader. Wereldwijd worden er jaarlijks ongeveer 800.000 bypassoperaties uitgevoerd. In Nederland ligt dit getal op ongeveer 11.000 per jaar.

Openhartoperaties gaan nog vaak gepaard met een bepaalde mate van postoperatieve longschade. Deze longschade wordt vaak toegeschreven aan het gebruik van de hart-longmachine. De hart-longmachine is een apparaat dat tijdelijk de functie van het hart en de longen overneemt door gasuitwisseling (zuurstof en koolzuur) met het bloed buiten het lichaam te laten plaatsvinden en het zuurstofrijke en koolzuurarme bloed vervolgens weer in het lichaam te pompen. De hart-longmachine maakt het mogelijk te opereren op een tot stilstand gebracht hart, zonder dat de patiënt aan zuurstoftekort zal lijden. Het gebruik van de hart-longmachine kent ook nadelen, de canules van de pomp moeten op de grote vaten worden aangesloten hetgeen operatief trauma veroorzaakt, het bloedcontact met lichaamsvreemde materialen, het gebruik van een lage niet pulsatiele bloeddruk, het verdunnen van het bloed met de vulvloeistof van het slangenstelsel en de blootstelling aan donorbloed. Deze nadelen kunnen leiden tot een systemische ontstekingsreactie die, samen met microembolieën die ontstaan zijn in de hart-longmachine, kan leiden tot orgaanschade aan het hart, de hersenen, de nieren, de ingewanden en de longen.

De mate van longschade kan bepaald worden met behulp van fysiologische parameters (alveolaire-arteriële zuurstofgradiënt, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ verhouding, mate van longoedeem, long compliantie en de vasculaire weerstand van de longen) of het meten van algemene, niet longspecifieke biochemische ontstekings markers. Longspecifieke biomarkers kunnen dan een aantrekkelijke aanvulling zijn bij het identificeren en kwantificeren van deze longschade. In het beste geval leidt algemeen onderzoek naar biomarkers tot het vinden van een specifieke biomarker die schade aan een specifiek orgaan perfect reflecteert. Ook een respons op een therapeutische behandeling zou meetbaar moeten zijn met de desbetreffende biomarker. Hoewel er veel uitdagingen zijn in het succesvol identificeren van een dergelijk biomarker, neemt het gebruik van biomarkers in medisch onderzoek en in de klinische praktijk in de laatste jaren gestaag toe.

De populariteit van biomarkers wordt duidelijk wanneer de zoekterm 'biomarker' wordt geëvalueerd in PubMed (online zoekrobot met referenties naar medisch wetenschappelijke artikelen). Zo werden alleen al voor het jaar 2015, 55.000 nieuwe wetenschappelijke artikelen geïndexeerd met de zoekterm 'biomarker'. Hoewel er verscheidene longschade biomarkers bekend zijn, worden deze nog niet vaak ingezet in

klinisch onderzoek dat nieuwe chirurgische procedures of nieuwe medische apparatuur bestudeert. Toch zijn de potentiële klinische applicaties groot voor de huidige beschikbare longschade biomarkers, doordat ze vroege detectie van geringe longschade kunnen detecteren wanneer ze voldoende sensitief (gevoelig) en specifiek zijn.

Dit leidt dan ook tot de vraagstelling van dit proefschrift, namelijk of en welke longschade biomarkers bruikbaar zijn voor het identificeren en het kwantificeren van postoperatieve longschade in de setting van cardiothoracale chirurgie. Om dit te beantwoorden begint **hoofdstuk 2** met een overzicht van de literatuur, hieruit kwam naar voren dat degranulatie producten van witte bloedcellen (neutrofielen) vaak gebruikt worden als biomarker voor longschade. Het gebruik van deze degranulatie producten als biomarkers komt voort uit het schadelijk effect dat deze producten van zichzelf hebben op het longweefsel. Echter zijn deze biomarkers niet longspecifiek. Daarentegen bieden longepitheel specifieke eiwitten, zoals ‘Surfactant Protein D (SP-D)’, ‘Clara Cell 16 kD (CC16)’ en ‘soluble Receptor for Advanced Glycation End products (sRAGE)’ meer specificiteit en worden deze biomarkers steeds vaker toegepast in klinisch onderzoek.

In **hoofdstuk 3** werd de bruikbaarheid van twee longepitheel specifieke eiwitten als biomarkers voor longschade verkend ten tijde van een bypassoperatie van de kransslagader. Het tweede doel van dit onderzoek was de invloed van de hart-longmachine op de postoperatieve longfunctie te bepalen en of een verminderde longfunctie werd gereflecteerd door een verhoogde bloedconcentratie van longepitheel specifieke eiwitten. Het bleek dat de longepitheel specifieke eiwitten SP-D en CC16 sensitieve biomarkers van longschade waren en dat deze bruikbaar zijn tijdens bypassoperaties. Daarnaast werd aangetoond dat een bypassoperatie uitgevoerd zonder hart-longmachine (‘off-pump’ methode) leidde tot lagere bloedconcentraties van SP-D en CC16 en dat deze geassocieerd waren met minder longschade. Hierbij werd longschade vastgesteld middels de verhouding van de partiële arteriële zuurstofspanning en de fractionele inspiratoire zuurstofconcentratie ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ratio) en de alveolaire-arteriële zuurstofgradiënt (Aa-O_2 gradiënt).

De verhoging van de bloedconcentraties van longepitheel specifieke eiwitten wordt veroorzaakt door schade aan het alveolaire capillaire membraan (membraan tussen longblaasjes en bloedvaatjes waar gaswuitwisseling plaatsvindt), welke vervolgens leidt tot verhoogde permeabiliteit (doorlaatbaarheid) van het membraan. De schade aan het membraan wordt toegeschreven aan de eerder beschreven ontstekingsreactie geïnduceerd door de hart-longmachine. De toegenomen plasmaconcentratie van Elastase (neutrofiel degranulatie product), en zijn associatie met SP-D, onderschrijven de verklaring van verhoogde permeabiliteit van het alveolaire capillaire membraan na het gebruik van de hart-longmachine. Deze verhoging van de permeabiliteit van het alveolaire capillaire membraan bleek slechts van tijdelijk aard te zijn, aangezien de plasmaconcentraties van de longepitheel specifieke eiwitten binnen een dag terugkeerden naar basis waarden.

De tweede bevinding was dat de stijging van longepitheel specifieke eiwitten gedurende de bypassoperatie van de kransslagaders lager was in de groep patiënten waarbij de hart-longmachine niet werd toegepast, ten opzichte van de groep patiënten waarbij de hart-longmachine wel werd toegepast. Uit de literatuur is bekend dat wanneer de hart-longmachine niet wordt gebruikt tijdens de bypassoperatie dit de ontstekingsreactie kan verminderen. Derhalve kan verwacht worden dat het weglaten van de hart-longmachine ook de toegenomen permeabiliteit van het alveolaire capillaire membraan en het daarmee gepaard gaande ‘lekken’ van longepitheel specifieke eiwitten vanuit het alveolaire compartiment naar de bloedsomloop kan verminderen.

In **hoofdstuk 4** onderzochten we het effect van een hart-longmachine met pulsatiele bloedstroom ten opzichte van continue bloedstroom bij patiënten die een aortaklepoperatie ondergingen. Op basis van de gemeten klinische uitkomst variabelen bleek dat er geen verschil was tussen beide methoden. Alleen de pulmonale vasculaire weerstandsindex vertoonde een bescheiden positief effect wanneer pulsatiele bloedstroom werd toegepast. Dat wil zeggen dat basis waarden niet werden overschreden terwijl deze in de groep met continue bloedstroom met 50% toenam.

Het nut van het toepassen van een hart-longmachine met pulsatiele bloedstroom is een controversieel onderwerp. Het gebruik van pulsatiele bloedstroom zou voordelig kunnen zijn in het voorkomen van postoperatieve longschade doordat er tijdens de operatie een betere doorbloeding is van de bronchiale slagaders. Het voordeel van actieve perfusie van de bronchiale slagaders is gedemonstreerd in een varkensmodel. In dit model werden de bronchiale slagaders direct aangesloten op de hart-longmachine. Hiermee werd aangetoond dat schadelijke metabole en ultrastructurele veranderingen van longweefsel significant werden gereduceerd. Bovendien werd er een lagere concentratie van ontstekings biomarkers gemeten in broncho-alveolaire lavage vloeistof.

In ons onderzoek was de veronderstelling dat de extra gegenereerde energie, opgewekt middels pulsatiele bloedstroom, ook zou leiden tot betere doorbloeding van de longcapillairen waardoor meer zuurstofrijk bloed, antioxidanten en nutriënten beschikbaar zouden komen voor de onvoldoende doorbloede (ischemische) long. Echter constateerden we dat er geen waarneembare klinische voordelen waren, behalve een lagere pulmonale vasculaire weerstands index. Daarnaast toonden de longschade biomarkers dat er op subklinisch niveau ook geen verschil meetbaar was tussen het gebruik van pulsatiele bloedstroom en continue bloedstroom.

Hoofdstuk 5 beschrijft het effect van ‘intraoperatieve cell salvage’ op longschade na openhartchirurgie. Intraoperatieve cell salvage is een techniek waarbij verloren bloed tijdens de operatie wordt opgevangen, wordt gewassen, en vervolgens wordt teruggegeven aan de patiënt. Hiervoor is een speciaal apparaat ontworpen, de ‘cell saver’. In dit apparaat worden de rode bloedcellen gescheiden van de witte bloedcellen, de

bloedplaatjes en het plasma. Vervolgens worden de rode bloedcellen gewassen met een fysiologische zoutoplossing waarna een concentraat van rode bloedcellen overblijft voor teruggave aan de patiënt.

De standaardmethode om bloedtransfusies te beperken is het opvangen van verloren bloed in een reservoir om het daarna direct terug te geven aan de patiënt. Uit de literatuur is bekend dat dit teruggegeven wondbloed ontstekingsbevorderend is, slecht is voor de hemostase (mechanisme van het lichaam dat bloedverlies voorkomt) en dat het de permeabiliteit van het alveolaire capillaire membraan kan verhogen. Met het gebruik van een cell saver wordt het bloed ontdaan van de geactiveerde plasmafractie. Deze plasmafractie bevat ontstekingsbevorderende cytokines, activatie producten van witte bloedcellen (o.a. Elastase), lipiden en andere ontstekingsbevorderende producten. Om deze reden werd dan ook verwacht dat verloren bloed verwerkt met een cell saver orgaanschade zou verminderen.

De belangrijkste vinding van dit onderzoek was dat het gebruik van intraoperatieve cell salvage inderdaad schade aan het alveolaire capillaire membraan van de long verminderde en dat patiënten sneller van de mechanische beademing af konden. Daarnaast resulteerde het gebruik van een cell saver in een significante verlaging van cytokines, degranulatie enzymen uit witte bloedcellen en van de longschade biomarkers CC16 en sRAGE. Minder longschade, zoals gemeten met longschade biomarkers, werd bevestigd door kortere mechanische beademingstijden in de cell saver groep.

Niet alleen het gebruik van een hart-longmachine, maar ook genetische factoren kunnen een rol spelen in het optreden van longschade en longfalen na transplantatie. In **hoofdstuk 6** was de benadering anders dan in eerdere hoofdstukken, aangezien niet de plasmaconcentratie van een biomarker werd gebruikt om longschade te identificeren of te kwantificeren. In plaats daarvan werd de relatie onderzocht tussen frequent voorkomende enkel-nucleotide polymorfismen in het gen dat codeert voor SP-D (longschade biomarker) en het optreden van 'primary graft dysfunction' en overleving na een longtransplantatie. Een enkel-nucleotide polymorfisme is een variatie in het DNA van een enkele nucleotide (bouwsteen van DNA). Primary graft dysfunction na longtransplantatie is gedefinieerd als het niet goed functioneren van de donorlong binnen 72 uur na transplantatie.

Uit het onderzoek kwam naar voren dat in één van de SP-D polymorfismen het Ala/Ala genotype van het Ala160Thr polymorfisme geassocieerd was met primary graft dysfunction en met overleving na transplantatie. De ontvangers die drager waren van Ala/Ala genotype hadden een twee keer zo grote kans op primary graft dysfunction en een 59% verhoogde kans op overlijden na transplantatie.

Een verklaring voor deze associatie is niet meteen duidelijk. We speculeren dat extrapulmonaal SP-D nog steeds van groot belang is voor de aangeboren immuniteit

na transplantatie. Mogelijkerwijs heeft het Ala/Ala genotype invloed op de functie van het SP-D eiwit, welke op zijn beurt de aangeboren immuniteit kan beïnvloeden. Het Ala160Thr polymorfisme ligt op het collageen-achtige domein van het SP-D eiwit en omdat het polymorfisme één van de aminozuren in het eiwit verandert, is het mogelijk dat dit leidt tot een verandering van plasma concentratie, oligomerisatie of functie van het SP-D eiwit. Hoe dan ook, aangezien we de plasmaconcentratie dan wel de oligomerisatie van SP-D niet hebben vastgesteld kunnen we slechts beperkte conclusies trekken ten aanzien van het mechanisme tussen het Ala160Thr polymorfisme en primary graft dysfunction en/of overleving na transplantatie. Dit verdient dan ook nader onderzoek in nieuw prospectief onderzoek.

Conclusie

In dit proefschrift is onderzocht of longschade biomarkers bruikbaar zijn voor het identificeren en kwantificeren van longschade na cardiothoracale chirurgie. Om deze vraag te beantwoorden zijn verschillende klinische onderzoeken uitgevoerd waarbij verschillende interventies zijn toegepast. Deze interventies hadden onder andere tot doel om postoperatieve longschade te reduceren, wat vervolgens meetbaar zou moeten zijn door een verlaging van longschade biomarkers in de bloedcirculatie.

We vonden inderdaad dat openhartchirurgie zonder het gebruik van een hart-longmachine (off-pump methode) resulteerde in minder postoperatieve longschade, en dat dit gereflecteerd werd door een lagere plasmaconcentratie van longschade biomarkers. Ditzelfde gold voor het toepassen van intraoperatieve cell salvage tijdens openhartchirurgie.

Het gebruik van pulsatiele bloedstroom resulteerde echter niet in een meetbare verbetering van de postoperatieve longfunctie, wat ook weer gereflecteerd werd door longschade biomarkers.

Als conclusie kunnen we stellen dat longschade biomarkers een waardevolle bijdrage kunnen leveren aan het identificeren en kwantificeren van post-operatieve longschade bij de evaluatie van nieuwe chirurgische ingrepen en/of medische apparatuur in de setting van cardiothoracale chirurgie. Naar mijn mening geeft het gebruik van alveolaire type I en II longschade biomarkers samen met fysiologische parameters de meest betrouwbare informatie over post-operatieve longschade.

