

Agonist-induced modulation of glycocalyx barrier properties in the microcirculation : role in blood volume recruitment and oxygen exchange in the heart

Citation for published version (APA):

Brands, J. (2010). *Agonist-induced modulation of glycocalyx barrier properties in the microcirculation : role in blood volume recruitment and oxygen exchange in the heart*. Maastricht University.

Document status and date:

Published: 01/01/2010

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

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.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 07 May. 2021



Summary

Agonist induced modulation of the endothelial glycocalyx

The endothelial glycocalyx profoundly reduces functionally perfused capillary volume by being inaccessible for flowing blood. Because the accessibility of the glycocalyx for flowing plasma was suggested to be increased by adenosine and metabolic stimuli, the aim of our project was to investigate whether agonist-induced glycocalyx modulation is occurring in the systemic and coronary circulation and whether this might be an additional mechanism by which vasoactive substances can contribute to flow and volume regulation, as well as the exchange capacity in the heart.

Systemic blood volume was measured using labeled red blood cells. Total blood volume was defined as the sum of red blood cell and red blood cell derived plasma volume using large vessel hematocrit. Systemic glycocalyx volume was determined from the difference in distribution volume of circulating plasma and the distribution volume of dextrans with a molecular weight of 40 kDa. Volume measurements were done at baseline and during intravenous administration of adenosine ($157 \pm 11.6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$). In the systemic circulation of goats it was observed that during intravenous administration of adenosine the difference between a glycocalyx permeable and impermeable tracer was reduced from 23.9 ± 5.3 (SEM) ml/kg bodyweight (BW) to 3.3 ± 3.2 ml/kg BW ($P < 0.05$), illustrating that adenosine indeed has the potency to greatly increase glycocalyx accessibility for flowing blood. The reduction in glycocalyx volume was not accompanied with an increase in plasma or blood volume, but appeared to be due to a reduction in anatomic vascular volume.

Coronary blood volume was determined using the indicator dilution technique. Total coronary blood volume was defined as the sum of red blood cell volume and the distribution volume of an assumed plasma tracer (dextrans with a molecular weight of 2000 kDa). After comparing the suitability of four models, the local density random walk model was chosen to analyze the measured data. Volume measurements were done at baseline and during intracoronary adenosine administration ($0.2\text{--}0.6 \text{ mg}/\text{kg}/\text{h}$) in the presence of an intact glycocalyx and after enzymatic degradation using the en-

zyme hyaluronidase (170.000 Units). Coronary blood flow was measured continuously by having a flowprobe around the left main coronary artery. Coronary adenosine infusion resulted in a profound recruitment of coronary blood volume; it increased significantly from 18.9 ± 1.1 ml/100gr heart tissue under baseline conditions to 33.2 ± 5.3 ml/100gr during adenosine. After hyaluronidase, the blood volume increased to 26.3 ± 2.7 ml/100gr, without an effect on coronary blood flow. Infusion of adenosine after hyaluronidase increased the blood volume to 33.9 ± 6.8 ml/100gr, illustrating impairment of adenosine-induced recruitment of coronary blood volume in case of glycocalyx loss. The increase in volume during hyaluronidase without a change in coronary blood flow and the increase in coronary blood flow during adenosine after hyaluronidase with a limited increase in coronary blood volume suggest that flow reserve and volume recruitment are, to some extent, two independent processes. Measurement of coronary flow reserve with adenosine, as done in the clinic, is therefore not sensitive to glycocalyx damage.

Coronary oxygen exchange capacity was determined from simultaneously taken arterial and coronary venous blood samples and coronary blood flow. Arterial and coronary venous blood samples were taken at heart rates of 80, 110, 140 and 170 beats per minute in the presence and absence (by hyaluronidase) of endothelial glycocalyx. When studying the exchange capacity in the heart a loss of blood excluding glycocalyx volume was associated with an increased oxygen exchange. The myocardial arteriovenous oxygen difference increased significantly from 7.0 ± 0.2 to 8.3 ± 0.3 ml/100ml, while no change in myocardial arteriovenous oxygen difference was observed in the control group. These data suggest that the presence of endothelial glycocalyx limits the myocardial oxygen exchange capacity under baseline conditions.

Thus, (1) adenosine administration results in a decrease in blood inaccessible glycocalyx volume; (2) loss of glycocalyx reduced volume recruitment capacity without having an effect on flow reserve, and (3) recruitment of glycocalyx volume increases oxygen extraction.



Samenvatting

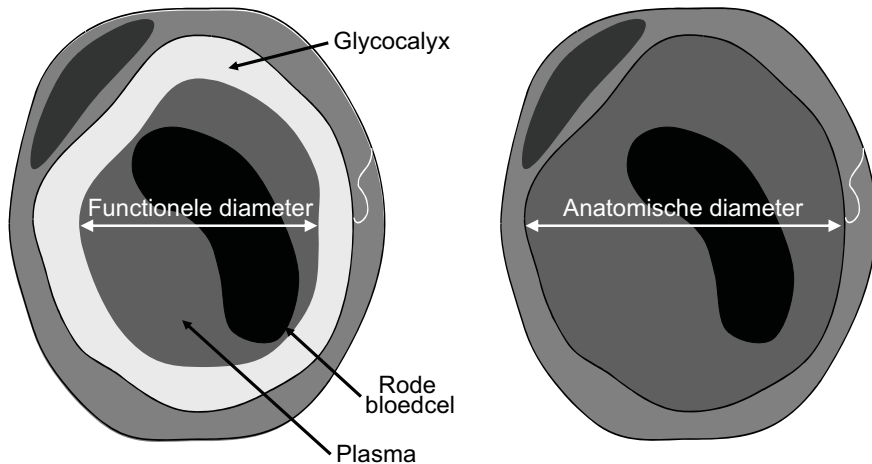
Agonist-geïnduceerde modulatie van de endotheliale glycocalyx

Achtergrond

Adenosine is een vaatverwijdende stof die in de kliniek wordt gebruikt om de ernst van een stenose (vernauwing) in een kransslagader op de doorbloeding van het hart en de bijdrage aan de pijn op de borst te bepalen. Tijdens de toediening van adenosine wordt er gekeken wat de toename in bloedstroom in de kransslagader is. Hoe minder de toename in bloedstroom is, des te erger is het effect van de stenose. Er is echter een groep personen met pijn op de borst die geen noemenswaardige stenose heeft, of een vernauwing die geen relevant effect heeft op de toename in bloedstroom in de kransslagader tijdens adenosine. Er wordt gedacht dat er in deze groepen personen problemen zijn met de microvasculatuur, de kleinere vaten van het hart. Een mogelijke oorzaak van problemen met deze kleine vaten is schade aan de glycocalyx, een gelachtige laag van langgerekte suikermoleculen en gebonden plasma eiwitten. Deze laag is in principe ontoegankelijk voor stromend bloed en beslaat in de haarvaten (de allerkleinste vaten) een groot deel van het totale volume van het vat (het anatomisch volume). Het anatomisch volume van een vat is daardoor aanzienlijk groter dan het volume van het vat waar zich het stromende bloed bevindt (functionele bloed volume), zie figuur 1. De glycocalyx heeft voornamelijk een beschermende functie van de vaatwand en een afname van het glycocalyxvolume wordt dan ook geassocieerd met verschillende vaatwandproblemen, zoals verhoogde lekkage en oedeemvorming, een verstoorde vaatverwijding als reactie op een toename in bloedstroom, alsmede een toename van het aantal witte bloedcellen die blijven plakken aan de vaatwand. Het hebben van een intacte glycocalyx lijkt dus van belang voor het hebben van gezonde bloedvaten. In patiënten met klachten maar zonder noemenswaardige stenose zou het meten van het glycocalyxvolume een goede alternatieve methode kunnen zijn om te bepalen of deze personen een risico lopen op hartproblemen.

”De glycocalyx is een soort anti-aanbak laag in je bloedvaten, zolang deze er zit blijft er niks plakken”

De glycocalyx zit in ieder bloedvat maar neemt in kleinere vaten relatief meer volume in. Het klassieke idee in de tekstboeken is dat de kleinste vaten, de haarvaten, starre buisjes zijn en dat de perfusie geregeld wordt door de weerstandsvaten. Door het opengaan van de weerstandsvaten gaat de bloedstroom en het bloedvolume omhoog. Door de aanwezigheid van een relatief dikke laag glycocalyx in de haarvaten is er een andere optie mogelijk; een toename in bloedvolume door veranderingen in de eigenschappen van de glycocalyx (toegankelijk worden voor stromend bloed) waardoor het bloedvolume in deze vaten toeneemt, zie figuur 1. Een toename in volume door verandering van de glycocalyx heeft tot gevolg dat de bijdrage van de weerstandsvaten aan de toename in bloedvolume minder is dan wat nu wordt gedacht en verandert de kijk op hoe de doorbloeding in het hart geregeld is. In eerdere studies was al opgemerkt dat de eigenschappen van de glycocalyx kunnen veranderen tijdens de toediening van adenosine. Adenosine wordt, zoals hierboven vermeld, in de kliniek gebruikt als vaatverwijder maar wordt ook door het hart zelf geproduceerd, bijvoorbeeld tijdens inspanning. Tot dusver was het effect van adenosine op de glycocalyx niet direct gemeten noch was de relevantie voor het hart ervan aangetoond. Het doel van onze studie was dan ook om te bepalen of de toename in bloedvolume tijdens de toediening van adenosine voor een deel bestaat uit het toegankelijk worden van glycocalyxvolume voor bloed. Verder waren we geïnteresseerd of de toename in bloedstroom tijdens adenosine beïnvloed wordt door de aanwezigheid van de glycocalyx. Ofwel kan schade aan de glycocalyx opgemerkt worden aan de hand van bloedstroommetingen? Als laatste hebben we gekeken naar de zuurstofuitwisseling in het hart. De glycocalyx bevindt zich met name in de haarvaten, de vaten waar de uitwisseling van zuurstof, voedingsstoffen en afvalstoffen plaatsvindt. Een toename in toegankelijkheid van bloed in de glycocalyx heeft dus wellicht gevolgen voor de uitwisseling van zuurstof.



Figuur 1 Toename in bloedvolume door toename in toegankelijkheid voor bloed in de glycocalyx. Links is een vat te zien met glycocalyx en het bloed bevindt zich alleen daar in het vat waar geen glycocalyx is. Rechts is eenzelfde vat te zien maar nu zonder glycocalyx. Door de afwezigheid van glycocalyx is het volume toegankelijk voor bloed aanzienlijk groter. Het bloedvolume rechts is dus toegenomen ten opzichte van het vat links zonder dat de diameter van het vat veranderd is.

Lichaamsniveau

Heeft adenosine een effect op het glycocalyxvolume in het lichaam?

Allereerst hebben we gekeken of adenosine een effect heeft op het glycocalyxvolume op lichaamsniveau. Om het glycocalyxvolume te meten werd het anatomisch volume (van wand tot wand) en het functioneel bloedvolume (alleen daar waar bloed zit) gemeten. Het verschil tussen deze twee volumes is het glycocalyxvolume. Deze meting werd gedaan in rust en tijdens de toediening van adenosine. Onder normale omstandigheden was er een groot verschil tussen het anatomisch en functioneel bloedvolume (~500 ml). Tijdens adenosine, daarentegen, was het verschil afgenomen tot vrijwel nul. Deze studie toont aan dat bijna het gehele glycocalyxvolume tijdens adenosine toegankelijk is geworden voor stromend bloed.

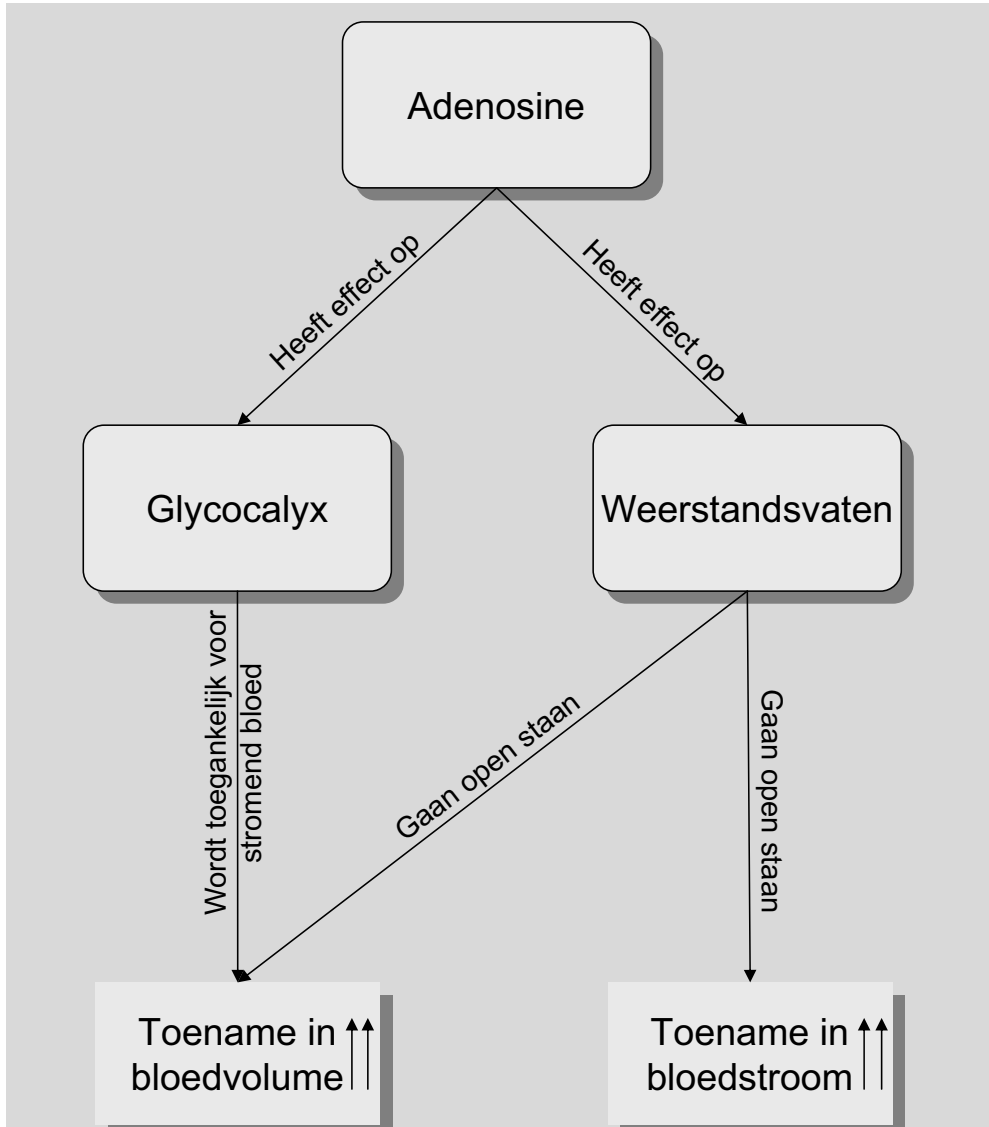
Glycocalyxvolume in het hart

Wat is de bijdrage van de glycocalyx aan de toename van bloedvolume in de kransvaten tijdens adenosine toediening?

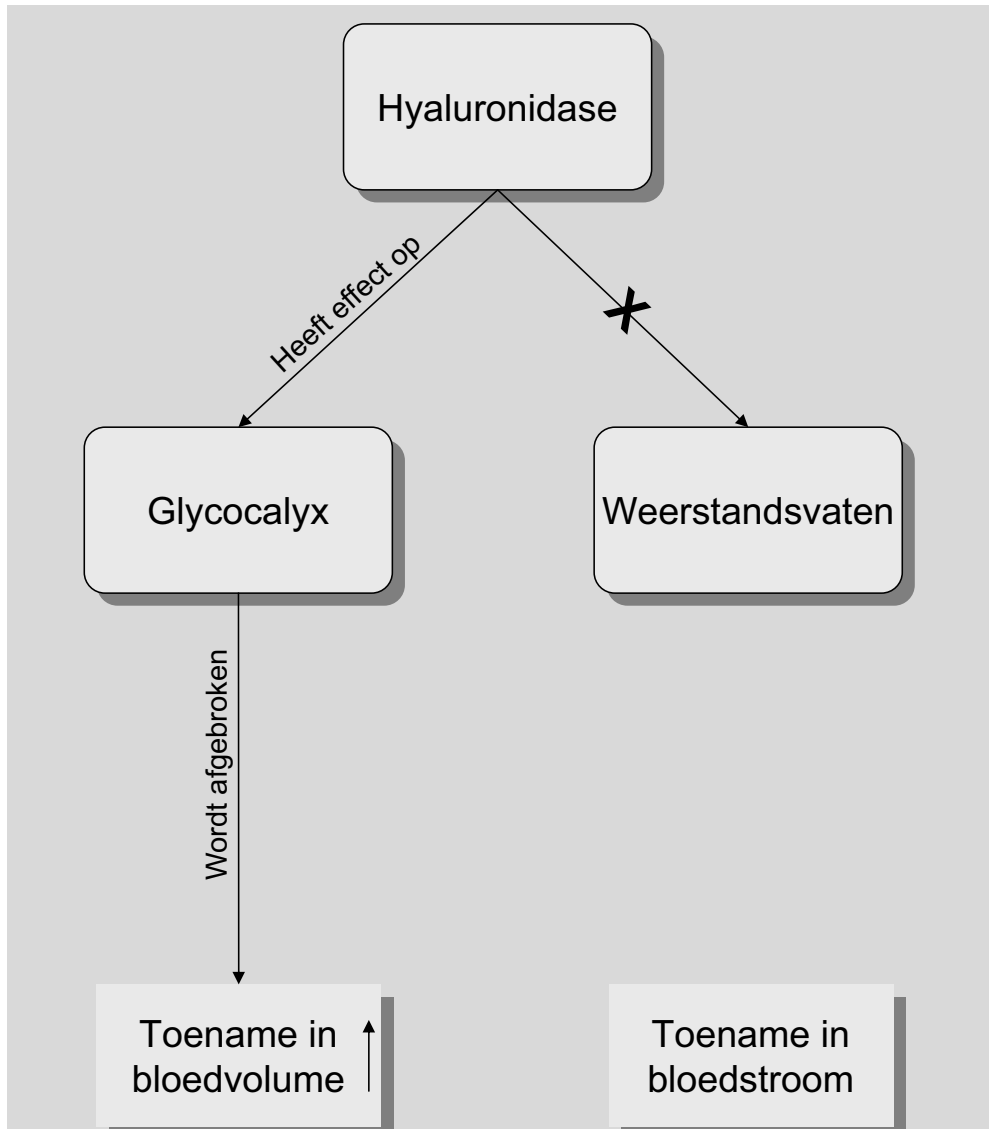
Hierna zijn we gaan kijken naar het effect van adenosine op het glycocalyxvolume in een specifiek orgaan, het hart. Ditmaal kon er niet gekeken worden naar het verschil tussen het anatomische volume en functioneel bloedvolume. Om de bijdrage van de glycocalyx aan de toename in bloedvolume tijdens adenosine te bepalen, is het bloedvolume in de vaten van het hart gemeten in rust en tijdens de toediening van adenosine. De metingen zijn gedaan met een intacte glycocalyx en herhaald na toediening van het enzym hyaluronidase dat de glycocalyx afbreekt. Met een intacte glycocalyx nam het coronaire bloedvolume toe van ongeveer 19 ml per 100 gram hartgewicht naar 33 ml per 100 gram tijdens adenosine. Ook was er een toename in bloedstroom, deze werd 2.3 keer zo hoog als in rust. Het effect van adenosine is schematisch weergegeven in figuur 2. Na toediening van hyaluronidase was het bloedvolume in rust toegenomen tot circa 26 ml per 100 gram en nam het tijdens adenosine verder toe tot bijna 34 ml per 100 gram. De toename in volume tijdens adenosine na hyaluronidase was dus aanzienlijk minder (ongeveer de helft) dan bij de meting met een intacte glycocalyx. Dit komt doordat het bloedvolume na hyaluronidase al was toegenomen. Het bloedvolume tijdens adenosine met en zonder glycocalyx was gelijk wat betekent dat adenosine en hyaluronidase evenveel glycocalyxvolume toegankelijk maken voor bloed. De toename in bloedvolume door de afbraak van glycocalyx met behulp van hyaluronidase ging niet gepaard met een toename in bloedstroom (figuur 3). Dit suggereert dat de weerstandsvaten niet open zijn gaan staan. De toename in bloedstroom tijdens adenosine was voor en na hyaluronidase gelijk (figuur 4). Deze resultaten laten zien dat 1) tijdens adenosine het glycocalyxvolume in het hart toegankelijk wordt voor stromend bloed en 2) dat een verandering van de glycocalyx geen effect heeft op de bloedstroom.

Speelt de glycocalyx een rol in zuurstof uitwisseling in het hart?

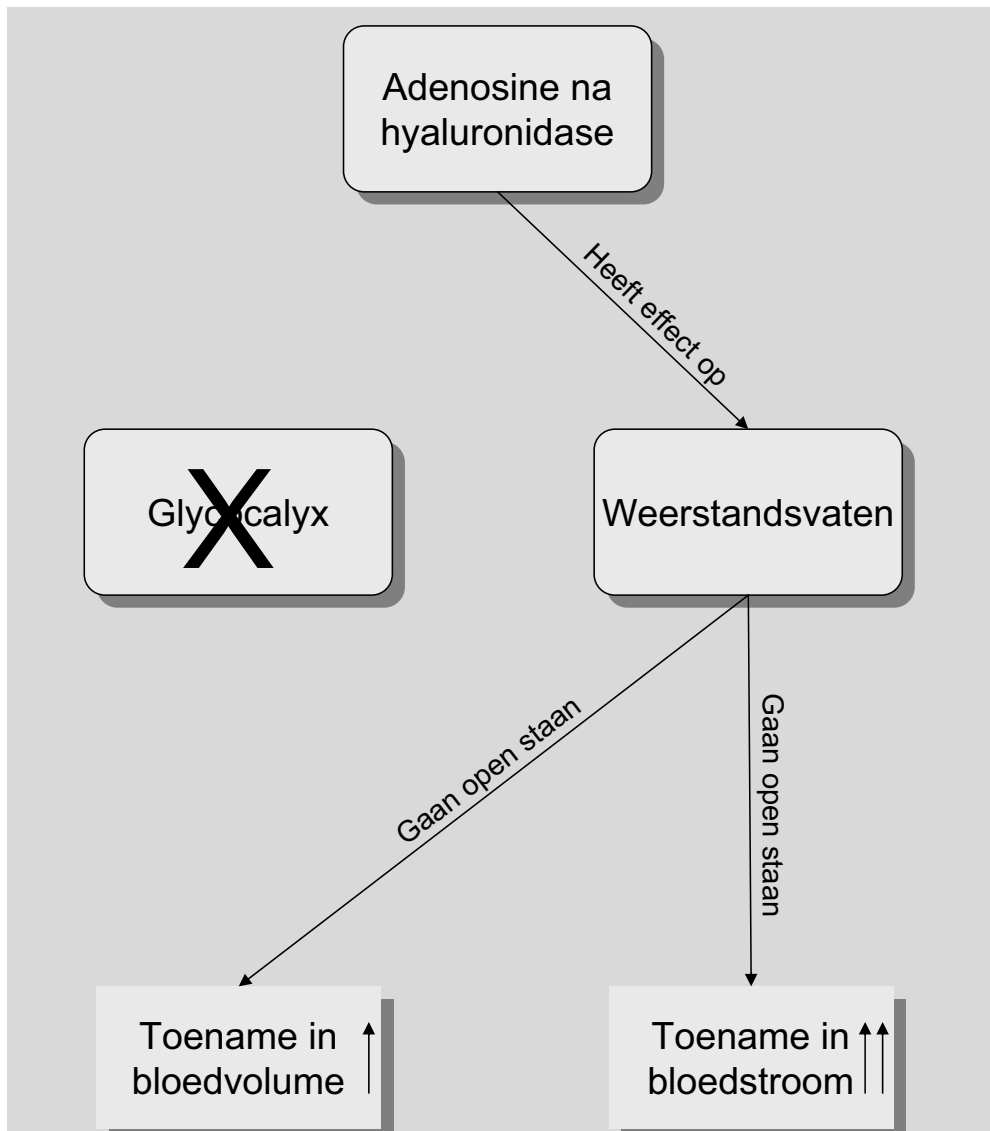
De glycocalyx bevindt zich met name in de haarvaten, de bloedvaatjes waar de uitwisseling van zuurstof, voedingsstoffen en afvalstoffen plaatsvindt. De zuurstofuit-



Figuur 2 Het effect van adenosine op de glycocalyx en weerstandsvaten. Met een intacte glycocalyx zal tijdens de toediening van adenosine er een toename in volume en bloedstroom zijn. Het bloedvolume neemt toe doordat de glycocalyx toegankelijk wordt voor bloed en door het open gaan staan van de weerstandsvaten. Dit laatste zorgt er ook voor dat er een toename in bloedstroom is.



Figuur 3 Het effect van hyaluronidase op de glycocalyx en weerstandsvaten. Na hyaluronidase is de glycocalyx afgebroken en hierdoor is het bloedvolume toegenomen. Hyaluronidase heeft geen effect op de weerstandsvaten waardoor de bloedstroom niet verandert.



Figuur 4 Het effect van adenosine na hyaluronidase op de glyocalyx en weerstandsvaten. Wanneer adenosine na hyaluronidase wordt gegeven is er geen glyocalyx meer die toegankelijk gemaakt kan worden. Adenosine heeft alleen nog maar een effect op de weerstandsvaten. Door het open gaan staan van de weerstandsvaten zal het bloedvolume en de bloedstroom toenemen.

wisseling in het hart is gemeten in de aanwezigheid van de glycocalyx alsook na behandeling met hyaluronidase of de toediening van infuusvloeistof (controlemeting). Na verwijdering van de glycocalyx was er een toename in zuurstofextractie terwijl de zuurstofextractie in de controlemetingen gelijk bleef. De aanwezigheid van de glycocalyx lijkt dus de zuurstof uitwisselingscapaciteit te beperken. Het toegankelijk maken van glycocalyxvolume voor bloed kan dus een mechanisme zijn waardoor het hart de zuurstof uitwisselingscapaciteit kan aanpassen aan zijn behoefte.

Interpretatie

Adenosine verandert de eigenschappen van de glycocalyx. Dit resulteert in een verhoogde toegankelijkheid voor stromend bloed in deze laag. De toename in volume tijdens adenosine bestaat dus niet alleen uit het open gaan staan van weerstandsvaten maar voor een aanzienlijk deel (ongeveer de helft) uit glycocalyx die toegankelijk wordt voor bloed. Dit houdt in dat volumeveranderingen, in tegenstelling tot wat in de tekstboeken staat, ook op niveau van haarvaten plaatsvindt. Het volume kan dus daar waar de uitwisseling van zuurstof en voedingstoffen plaatsvindt gereguleerd worden. Onze resultaten laten verder zien dat de toename in bloedtoegankelijk glycocalyxvolume niet gepaard gaat met veranderingen in bloedstroom. Dus wanneer er schade is opgetreden aan de glycocalyx is deze niet te bepalen aan de hand van een veranderde bloedstroom.

Het toegankelijk maken van de glycocalyx voor bloed had een positief effect op de uitwisselingscapaciteit voor zuurstof van het hart. Hoewel een kortdurende afbraak van glycocalyx gunstig lijkt voor de uitwisseling van zuurstof in het hart, zal langdurige afwezigheid van de glycocalyx waarschijnlijk op de langere termijn nadelige gevolgen hebben voor patiënten. Het hart zal zich vermoedelijk gaan aanpassen aan de nieuwe situatie door het verkleinen van het vaatvolume zodat het bloedvolume ongeveer gelijk wordt aan dat gemeten met een intacte glycocalyx. Bij een verhoogde zuurstofvraag van het hart, bv. tijdens inspanning, zal het hart zich echter minder goed kunnen aanpassen. Er is namelijk een verminderend glycocalyxvolume aanwezig dat toegankelijk gemaakt kan worden voor stromend bloed om hiermee de uitwisseling van zuurstof te bevorderen. Het niet adequaat kunnen aanpassen van aanbod aan vraag door glycocalyxschade, zou dan kunnen bijdragen aan de pijn op de borst

bij patiënten zonder noemenswaardige vernauwing in een van hun kransslagaders.

Wat nog te doen

Het mechanisme hoe vaatverwijdende middelen, zoals adenosine, de glycocalyx veranderen is nog onbekend en vereist verder onderzoek. Het enzyme hyaluronidase breekt de glycocalyx grotendeels af door essentiële componenten uit de glycocalyx te verwijderen. Onze data laat zien dat ook tijdens de toediening van adenosine een deel van de glycocalyx afgebroken wordt. Wanneer hyaluronidase na adenosine werd gegeven was er een verdere afbraak van de glycocalyx wat erop duidt dat adenosine de glycocalyx in mindere mate afbreekt dan hyaluronidase. Verder bestaat de mogelijkheid dat er ook een verandering in lading van de glycocalyx plaatsvindt. Dit heeft tot gevolg dat er wellicht niet alleen afbraak plaatsvindt maar ook een verandering in eigenschappen van de glycocalyx.

In het hart is er tijdens adenosine een toename in bloedvolume in de vaten gemeten, terwijl op lichaamsniveau het bloedvolume gelijk bleef en het anatomisch volume afnam. Deze data geven aan dat er niet overal in het lichaam hetzelfde lijkt te gebeuren tijdens systemische toediening van adenosine. In sommige organen zal het bloedvolume toenemen, zoals in het hart, terwijl in andere organen het bloedvolume waarschijnlijk afneemt. Om te bepalen of dit ook daadwerkelijk zo is hebben we bij ratten verschillende organen uitgenomen (zoals hart, long, lever, nier, spieren en hersenen), in de aan- en afwezigheid van adenosine. In de nabije toekomst zullen we in de verschillende organen het aantal met bloed doorstroomde capillairen tellen en deze gaan vergelijken met het totaal aantal capillairen. Door de data van de adenosine groep te vergelijken met de controle groep kunnen we te weten komen of adenosine inderdaad leidt tot uitval van gebruikte capillairen in bepaalde organen en een toename van het aantal capillairen dat gebruikt wordt in andere organen.

Klinische toepassing

De data uit dit proefschrift suggereren dat glycocalyxschade nadelige gevolgen heeft voor op het elkaar aanpassen van vraag en aanbod van zuurstof in het hart en dat metingen van bloedvolume in de kransvaten van het hart dus zinvol kunnen zijn

in patiënten die pijn op de borst en geen noemenswaardige stenose hebben in een kransslagader. Een belangrijke stap voordat deze studie naar de kliniek vertaald kan worden, is het ervoor zorgen dat de methode patiëntvriendelijk wordt. Dit laatste zou kunnen door gebruik te maken van beeldvorming, zoals MRI, al dan niet in combinatie van niet schadelijke belletjes die hetzelfde gedrag vertonen als rode bloedcellen. De meetmethode zou dan standaard uitgevoerd kunnen worden bij patiënten met pijn op de borst tijdens inspanning (zoals fietsen of (trap)lopen). Een mogelijke therapie voor deze personen zou het toedienen van glyocalyx componenten kunnen zijn zodat een beschadigde glyocalyx weer hersteld wordt.

Conclusie

In dit proefschrift is er aangetoond dat toename in bloedvolume tijdens de toediening van vaatverwijdende stoffen voor de helft bestaat uit een toename in toegankelijkheid van de glyocalyx voor stromend bloed. Deze bevinding is in tegenstelling tot dat wat in de tekstboeken staat. Daar wordt er vanuit gegaan dat veranderingen in volume komen door het open gaan staan van weerstandsvaten. Een beschadiging van de glyocalyx wordt niet opgemerkt wanneer er alleen naar bloedstroom wordt gekeken aangezien de doorbloeding van het hart onafhankelijk van de glyocalyx kan veranderen. Schade aan de glyocalyx kan wel worden waargenomen wanneer er naar een bloedvolume verandering wordt gekeken. Aangezien glyocalyxschade in verband wordt gebracht met vaatwand problemen, is het meten van glyocalyxvolume wellicht een belangrijke nieuwe meetmethode om patiënten op te sporen die geen noemenswaardige stenose hebben, maar wel een verhoogd risico lopen op hartproblemen.

