



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Reversal of drug-affected breathing

Bijl, J.H.L.

Citation

Bijl, J. H. L. (2006, June 21). *Reversal of drug-affected breathing*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4419>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4419>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

8 Samenvatting en Conclusies

Het gebruik van geneesmiddelen in de behandeling en preventie van ziekte en pijn is niet meer weg te denken uit onze samenleving. De meeste geneesmiddelen hebben behalve hun beoogd effect ook bijwerkingen (vooral die middelen die door de anesthesioloog worden gebruikt). Het merendeel van deze bijwerkingen is mild en heeft geen consequenties voor de patiënt. Sommige bijwerkingen daarentegen zijn potentieel bedreigend. Bijvoorbeeld, ademdepressie veroorzaakt door opioïden (morfine en aanverwante stoffen) kan aanleiding geven tot het ontstaan van hypoxie, hypercapnie en acidose, en kan soms zelfs de dood van de patiënt tot gevolg hebben (Br J Anaesth 2003; 91: 40-9). Het is daarom van belang het effect van geneesmiddelen op de ademhaling te bestuderen en de onderliggende mechanismen te doorgronden. Dit kan men doen door deze geneesmiddelen zelf te onderzoeken (bijvoorbeeld opioïden) of door de bestudering van andere agentia die ons inzicht verschaffen in het complexe mechanisme van de ademregulatie. Verder is het van evident belang om behandelingen te ontwikkelen die toegepast kunnen worden indien zich levensbedreigende bijwerkingen en situaties voordoen zoals bijvoorbeeld ademdepressie door opioïden.

Het eerste deel van dit proefschrift beschrijft de ademhalingseffecten van de opioïde pijnstiller buprenorfine en de mogelijkheden om buprenorfine-geïnduceerde ademdepressie om te keren met behulp van de niet-specifieke opioïd receptor antagonist naloxon. In het tweede deel ligt de nadruk op het mechanisme van de reflexmatige ademhalingsreactie op hypoxie en hypercapnie. Remmers van het enzym carbo-anhydrase worden toegediend aan vrijwilligers en genarcotiseerde katten en de ademhalingsreacties op isocapnische hypoxie en hypercapnie worden gemeten. Tenslotte wordt de interactie tussen antioxidanten en de carbo-anhydrase remmer acetazolamide op de ademhalingsrespons op hypoxie bestudeerd in gezonde vrijwilligers.

In **hoofdstuk 2** werden de ademhalingseffecten van twee analgetica vergeleken: fentanyl en buprenorfine. Experimenten werden uitgevoerd in de mens (gezonde vrijwilligers) en de (wakkere) rat. Buprenorfine veroorzaakt zijn effect, net als fentanyl, door activatie van de μ -opioïd receptor (J Neurosci 2003; 23: 10331-7) en veroorzaakt (net als fentanyl) ademdepressie. De doses die werden getest varieerden in de mens voor fentanyl van 0 tot $7 \mu\text{g.kg}^{-1}$ en voor buprenorfine van 0 tot $9 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (het betreft equi-analgetische doses). Buprenorfine toonde een duidelijk plafond in het ademhalingseffect: in een dosering groter dan $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$ daalde de ademhaling met maximaal 50% in de mens; in de rat steeg de arteriële PCO_2 met maximaal 1–1,5 kPa onafhankelijk van de dosis. In tegenstelling tot buprenorfine veroorzaakte fentanyl een dosisafhankelijk effect op de ademhaling in de mens met cyclisch

ademen en apneu (ademhalingsarrest) bij doses groter dan $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$, en een lineaire dosisafhankelijke stijging van de arteriële PCO_2 in de rat met de dood tot gevolg hebbend bij doses groter dan $90 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Hoewel deze bevindingen suggereren dat buprenorfine een relatief veilig analgeticum is (in tegenstelling tot fentanyl), moet men in ogenschouw nemen dat de hier besproken studies zijn uitgevoerd in gezonde vrijwilligers (en dieren) zonder pijn, medicatie en onderliggende ziekten. Hoe buprenorfine zich gedraagt in (oudere) patiënten met pijn, medicatie en onderliggende (pulmonale) problematiek blijft onduidelijk en verdient verdere studie.

Het is duidelijk dat de data aangeven dat buprenorfine zich in het geteste dosisbereik gedraagt als een partiële agonist voor de ademdepressie die het teweegbrengt (een partiële agonist veroorzaakt een partieel effect ondanks de volledige bezetting van de betrokken receptoren). Deze bevindingen zijn echter dan pas klinisch relevant indien zich een soortgelijk plafondeffect *niet* voordoet voor de beoogde pijnstillende effecten van buprenorfine. Om dit te onderzoeken werden in **hoofdstuk 3** de ademhalingseffecten en pijnstillende effecten van twee doses buprenorfine (0,2 en 0,4 mg per 70 kg) vergeleken in de mens. Zoals eerder voorspeld (**hoofdstuk 2**) was er geen verschil in de ademhalingseffecten van deze twee doses buprenorfine. Het pijnstillend effect nam daarentegen significant toe gaande van 0,2 naar 0,4 mg buprenorfine. De data die zijn verzameld in **hoofdstukken 2 en 3** geven aan dat buprenorfine zich anders gedraagt voor de effecten die worden veroorzaakt door activatie van μ -opioïd receptoren betrokken bij pijnstilling (geen plafondeffect) *versus* μ -opioïd receptoren betrokken bij de ademhaling (wel plafondeffect). Hoewel er voor dit verschijnsel verschillende verklaringen mogelijk zijn (**hoofdstuk 3**), is de meest waarschijnlijke en elegante verklaring een mogelijk verschil in receptordichtheid in de hersendelen betrokken bij de twee gemeten eindpunten (Pharmaceut Res 2000; 17: 653-9). Een relatief lage dichtheid van μ -opioïd receptoren in die hersendelen betrokken bij ademhaling en een relatief hoge receptordichtheid in die delen betrokken bij pijnstilling kan verklaren dat de partiële opioïd agonist buprenorfine wel een plafondeffect vertoont voor ademhaling maar niet voor pijnstilling (terwijl de volle μ -opioïd agonist fentanyl een ongelimiteerd effect voor beide eindpunten laat zien).

In **hoofdstuk 4** werd onderzocht of de niet-selectieve opioïd antagonist naloxon in staat is de ademdepressie door opioïden om te keren. Het betreft een uitgebreide set experimenten in 99 proefpersonen. De buprenorfine data moeten worden gezien tegen de achtergrond van de waarneming dat naloxon al in een relatief lage dosering ($< 6 \mu\text{g.kg}^{-1}$) in staat is de ademdepressie veroorzaakt door morfine en alfentanil volledig om te keren. Veel hogere doses naloxon waren nodig om ademdepressie door buprenorfine (0,2 en 0,4 mg) om te keren (doses groter dan $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$). Ook bleek dat volledige omkering dan slechts mogelijk is indien naloxon als continue infusie wordt toegediend. De noodzaak van een hoge dosis naloxon is gerelateerd aan de hoge affiniteit van buprenorfine voor de μ -opioïd receptor (Eur J Pharmacol 2005; 507: 87-98); de noodzaak van een continue infusie aan de korte eliminatiehalfwaardetijd van naloxon. Een opmerkelijke bevinding was dat de naloxon dosis–

responscurve een omgekeerde U-vorm laat zien. Doses groter dan 5 mg veroorzaakten een dosis-afhankelijke afname van de omkering van de ademdepressie. Deze data zijn vergelijkbaar met de omgekeerde U-vorm van de buprenorfine dosis-responscurven voor antinociceptie en ademdepressie in dierexperimentele studies (Br J Pharmacol 1981; 74: 627-33 (analgesiedata); Br J Pharmacol 1982; 75: 118 (ademhalingsdata); zie ook **hoofdstuk 1**). Een mogelijke verklaring van deze resultaten is het optreden van zogenaamde non-competitieve autoinhibitie. Hierbij is er sprake van twee μ -opioïd receptorpopulaties: één populatie die de agonistische effecten van lage doses buprenorfine medieert, en één populatie die de antagonistische effecten medieert na toediening van hoge doses buprenorfine (Life Sci 1981; 29: 2699-2708). Deze data zijn van klinisch belang. Immers, voor omkering van de ademdepressie door buprenorfine zijn relatief hoge doses naloxon en een continue infusie noodzakelijk, maar een te hoge dosis zal de omkering bemoeilijken of zelfs tegenwerken.

De afname van de koolzuurgevoeligheid van de centrale chemoreceptoren door een lage dosis methazolamide (**hoofdstuk 6**) is een bevestiging van eerdere bevindingen met acetazolamide in hetzelfde dierpreparaat (J Physiol 1996; 495: 227-37). Beide resultaten kunnen verklaard worden indien men uitgaat van de rol van het enzym carbo-anhydrase (CA) in de regulatie van de hersendoorbloeding. Een toename van de hersendoorbloeding is één van de factoren die een rol spelen in de verandering in de hersenstam PCO_2 (de vermoedelijke stimulus van de centrale chemoreceptoren) na een verandering in eind-expiratoire PCO_2 . De lagere centrale koolzuurgevoeligheid na lage doses acetazolamide en methazolamide kan dan verklaard worden door een toename van de hersendoorbloedingsgevoeligheid (voor CO_2) na remming van de membraangebonden CA isovorm IV. Deze isovorm bevindt zich in het endotheel van de bloedvaten in het brein en/of aan de extracellulaire membraanzijde van astrocyten en/of oligodendrocyten (J Neurocytol 2000; 29: 263-9; Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 6823-7; Cerebrovasc Dis 2000; 10: 65-9). Acetazolamide veroorzaakt cerebrale vasodilatatie maar dit effect is dosisafhankelijk en treedt alleen op indien de dosis groter is dan 5 mg.kg^{-1} (Cerebrovasc Dis 2000; 10: 65-9). Verder onderzoek is nodig om de invloed van lage doses acetazolamide en methazolamide op de relatie tussen de arteriële PCO_2 en de hersendoorbloeding vast te stellen.

Vanuit het gezichtspunt van een enzymremming alleen is de afname van de acute (**hoofdstuk 5**) en subacute of 'steady-state' (**hoofdstuk 7**) hypoxische ventilatoire gevoeligheid door een lage dosis acetazolamide moeilijk te begrijpen. De type I cellen van de glomuslichaampjes bevatten verschillende carbo-anhydrase iso-enzymen waarvan CA II en CA III zijn aangetoond in de rat (J Anat 2003; 202: 573-7), terwijl ook tenminste één membraangebonden isovorm aanwezig is (Neurosci Lett 1994; 166: 126-30). Dierexperimentele studies toonden aan dat remming van het carbo-anhydrase in de glomuslichaampjes door methazolamide de dynamische reactie op plotselinge zure (hypercapnische) stimuli vertraagt terwijl de steady-state hypoxische ventilatoire gevoeligheid niet verandert (Am J Physiol 1991; 265: C565-73). Opmerkelijk is dat, in tegenstelling tot lage doses acetazolamide (J Physiol Lond 1996; 495: 227-37), een lage dosis methazolamide de koolzuurgevoeligheid van de perifere

chemoreceptoren in de kat *niet* verlaagde (**hoofdstuk 6**). Een interessante bevinding in het *in vitro* glomuslichaampje van de kat was dat methazolamide de respons op hypoxie *niet* reduceert. Het resultaat dat een lage dosis methazolamide de isocapnische hypoxische gevoeligheid in de intacte kat *niet* remt (**hoofdstuk 7**) past hierbij. Nog interessanter is de bevinding (**hoofdstuk 7**) dat, in tegenstelling tot acetazolamide (J Appl Physiol 1992; 72: 1717-23), zelfs een hoge dosis methazolamide geen depressie van deze respons veroorzaakt. Dit alles geeft aan dat een normale activiteit van carbo-anhydrase niet noodzakelijk is voor een normale hypoxische ventilatoire reactie.

De bovengenoemde bevindingen wijzen erop dat acetazolamide en methazolamide een verschillend effect hebben op de door de glomuslichaampjes gemedieerde reacties op veranderingen in arteriële PCO₂ en PO₂. Terwijl methazolamide, in staat om een volledige remming van het enzym carbo-anhydrase in alle weefsels te veroorzaken, de hypoxische ventilatoire respons niet deprimeert, veroorzaakte acetazolamide, een minder lipofiele CA-remmer met een zelfs geringere affiniteit voor CA II en CA IV (Mol Pharmacol 1993; 44: 901-5) juist wel depressie van de hypoxische respons. Dit suggereert dat beide middelen hun effect sorteren langs verschillende farmacologische wegen. Acetazolamide heeft invloed op de spanningsgevoelige Ca²⁺-afhankelijke kalium (BK) kanalen. BK kanalen behoren tot die kaliumkanalen die een rol spelen bij de zuurstofmeting in het glomuslichaampje (Science 2004; 306: 2093-7). In spiercellen van kalium-gedepleerde ratten blijkt acetazolamide BK kanalen te openen terwijl methazolamide dit effect mist (FASEB J 2004; 18: 760-1). Het is verleidelijk te speculeren dat acetazolamide op BK kanalen in de glomuslichaampjes werkt hoewel er geen direct bewijs voor is. Indirect bewijs wordt gevormd door het feit dat een lage dosering acetazolamide een vaatverwijdend effect heeft door een vermoedelijk effect op BK kanalen (Br J Pharmacol 2001; 132: 443-50). Een effect van acetazolamide op andere ionkanalen (calcium- of natriumkanalen) kan echter ook niet worden uitgesloten (**hoofdstuk 7**).

Een belangrijke eigenschap van kaliumkanalen is hun redoxgevoeligheid (Am J Physiol 1998; 275: C1-24; Clin Exp Pharmacol Physiol 2002; 9: 305-11). In **hoofdstuk 5** werd beschreven dat acetazolamide in de mens de isocapnische acute (< 5 min) hypoxische ventilatoire respons deprimeert en dat de O₂-CO₂ interactie (de toename in hypoxische ventilatoire gevoeligheid bij een stijgende PCO₂) verdwijnt. Tevens werd aangetoond dat een cocktail van antioxidanten het effect van acetazolamide omkeert. De meest plausibele maar vooralsnog speculatieve verklaring is dat acetazolamide en antioxidanten onafhankelijke en verschillende effecten sorteren op kaliumkanalen (opening door acetazolamide, sluiting door antioxidanten). De O₂-CO₂ interactie blijkt te worden veroorzaakt door een toename in de intracellulaire Ca²⁺-concentratie in de type I glomuscellen (Am J Physiol 2000; 279: L36-42). Hyperpolarisatie door acetazolamide (ofwel door een intracellulair alkaliserend effect ofwel door de opening van BK kanalen) zou de influx van calciumionen in de zuurstofmetende cellen verminderen, hetgeen het verdwijnen van de O₂-CO₂ interactie, zoals al eerder door ons in de kat aangetoond (J Physiol 2001; 537: 221-9), verklaard.

Als we alle data beschouwen betreffende de omkering van (acetazolamide en inhalatieanesthesie geïnduceerde) ademdepressie door de toediening van antioxidanten (**hoofdstuk 5**; J Physiol Lond 2002; 544: 931-8 (halothaandata); Anesthesiology 2005; 102: 47-53 (isofluraandata); zie ook **hoofdstuk 1**), dan rijst de vraag of antioxidanten beschouwd mogen worden als een algemene, eenvoudige en relatief onschadelijke manier om farmacologische inhibitie van de perifere chemoreceptoren (ter plekke van het glomuslichaampje) tegen te gaan. Een tweede vraag is dan of antioxidanten een belangrijke rol zouden kunnen spelen in de anesthesiologische praktijkvoering. Zouden antioxidanten, makkelijker dan naloxon, de ademdepressieve effecten van opioïden (zoals buprenorfine) kunnen omkeren, zonder dat de pijnstillende effecten van deze middelen worden beïnvloed? En verder nog, zouden (membraandoorgankelijke) antioxidanten ook de deprimerende effecten van farmaca op de centrale chemoreceptoren en ademhalingsneuronen kunnen opheffen? Deze vragen zijn onderwerp van verder onderzoek in onze laboratoria.

Concluderend, aan het einde van dit proefschrift, is het nu mogelijk de doelstellingen beschreven op pagina 15 te bespreken:

1. **Beschrijving van de dosis–ademhalingsrespons relatie van buprenorfine en fentanyl.**
De pijnstiller buprenorfine vertoont een dosis-afhankelijke ademdepressie dat een plateau bereikt bij $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Dit fenomeen wordt ook wel plafondeffect genoemd. Buprenorfine gedraagt zich in dit opzicht anders dan fentanyl dat een dosis-afhankelijke ademdepressie veroorzaakt met periodiek ademen en apneu's na toediening van doses groter dan $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Deze data geven aan dat buprenorfine een partiele agonist is van de μ -opioïd receptor.
2. **Vergelijking van de pijnstillende- en ademhalingseffecten van buprenorfine.** In tegenstelling tot de ademdepressie (waarbij er sprake is van een plafondeffect) laat buprenorfine geen plateau zien in de pijnstilling (dosisbereik 0 tot $6 \mu\text{g.kg}^{-1}$). Een mogelijk mechanisme voor dit verschil zou kunnen liggen in een verschil in μ -opioïd receptordichtheid in die delen van het brein die betrokken zijn bij de regeling van de ademhaling en de pijnstilling, met een relatieve afgenomen μ -opioïd receptordichtheid in de gebieden betrokken bij de ademhaling.
3. **Omkering van opioïd-geïnduceerde ademdepressie met nadruk op buprenorfine.** In tegenstelling tot morfine en alfentanil is buprenorfine relatief ongevoelig voor omkering door de specifieke opioïd antagonist naloxon. Hoge doses naloxon zijn nodig om volledige omkering te verkrijgen (2 tot 4 mg per 70 kg, gegeven in 30 min). Hogere doses veroorzaken daarentegen een afname van de omkering. Deze 5 separate studies tonen aan dat de specifieke naloxon dosis als ook de manier van toediening van groot belang is om een volledige en langdurige omkering te krijgen van de ademdepressie die buprenorfine veroorzaakt. Nadat de toediening van naloxon (als bolus met of zonder kortdurende

infusie) wordt gestopt keert de ademdepressie weer snel terug. Verder onderzoek is nodig om de specifieke naloxon dosis en toedieningswijze te bepalen die gebruikt kan worden in de kliniek. In de patiënt spelen factoren een rol die niet aanwezig zijn in gezonde vrijwilligers, zoals bijvoorbeeld acute en chronische pijn en de toediening van hoog gedoseerde opioïden en langwerkende opioïden.

- 4. Vermogen van antioxidanten om acetazolamide-geïnduceerde depressie van de ventilatoire respons op acute hypoxie om te keren.** In een serie complexe experimenten in gezonde vrijwilligers wordt waargenomen dat acetazolamide de isocapnische ventilatoire respons op acute hypoxie (< 3 min) als ook de O₂–CO₂ interactie in de glomuslichaampjes deprimeert. Een cocktail van ascorbinezuur en α -tocopherol (vitamine C en E) is in staat het door acetazolamide veroorzaakte effect op de ademhaling volledig teniet te doen. Het is waarschijnlijk dat hier sprake is van twee onafhankelijke effecten van acetazolamide en antioxidanten op kaliumkanalen in de type I cel van het glomuslichaampje. De resultaten van deze studie geven ons niet alleen inzicht in het mechanisme van de zuurstofmeting in de cel, maar ook in het mechanisme van acetazolamide en in het gunstig effect dat dit middel heeft bij hooggebergteziekte. Verdere studies zijn nodig om dit nader te bestuderen en om in te gaan op de vraag of dit zelfde mechanisme een rol speelt in de zuurstofmeting in andere cellen dan de type I glomuscel (bijvoorbeeld in het longvaatbed).
- 5. Effecten van de carbo-anhydrase remmers acetazolamide en methazolamide op de ventilatoire hypoxische en hypercapnische respons.** In de genarcotiseerde kat deprimeert een lage dosis methazolamide noch de perifere koolzuurgevoeligheid, noch de ventilatoire respons op steady-state hypoxie. Zelfs bij hoge dosis blijft de ventilatoire respons op steady-state hypoxie onveranderd. In tegenstelling tot methazolamide deprimeert een lage dosis acetazolamide wel de ventilatoire respons op acute en steady-state hypoxie. Deze data suggereren dat carbo-anhydrase geen bepalende rol speelt in het mechanisme van zuurstofmeting in de type I glomuscel. Het geeft verder aan dat acetazolamide maar niet methazolamide inwerkt op een systeem (bijvoorbeeld een eiwit) dat een cruciale rol speelt in de zuurstofmeting en de hypoxische ventilatoire respons. Een mogelijke kandidaat is het Ca²⁺-afhankelijke kalium (BK) kanaal.