

Multi-omics discovery of novel molecular pathways in cardiovascular calcification

Citation for published version (APA):

Heuschkel, M. A. (2022). *Multi-omics discovery of novel molecular pathways in cardiovascular calcification*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20220907mh>

Document status and date:

Published: 01/01/2022

DOI:

[10.26481/dis.20220907mh](https://doi.org/10.26481/dis.20220907mh)

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.

I SUMMARY

Cardiovascular disease (CVD) is the primary cause of mortality worldwide. A major comorbidity in CVD patients is type 2 diabetes mellitus (T2DM), in which cardiovascular calcification represents a contributing risk factor. Despite progress in treatment and diagnosis of CVD in the past few decades, cardiovascular calcification persists as a CVD risk factor without pharmacotherapy to inhibit or halt its progression. The advances in multi-omics research tools present an opportunity to explore novel molecular networks in cardiovascular calcification. Therefore, the scientific purpose of this research project was to better understand the mechanism of increased vascular calcification in T2DM patients by applying the emerging concept of a multi-omics network to generate new hypotheses for therapeutic options. First, this thesis established an effective use of bioinformatics tools in omics analysis using publicly available multi-omics data sets in calcific aortic valve disease (CAVD). The integration of the multi-omics data proposed a novel layered network in CAVD that was linked to amyloid plaque formation processes. Moreover, transcriptomics analysis of calcium/phosphate (CaP)-induced calcification of vascular smooth muscle cells (VSMCs) provided a gene signature that served as a conceptual framework for mechanistic investigations. CaP-induced vascular calcification triggered decreased mitochondrial respiration and glycolysis in VSMCs. Drug repurposing analysis suggested a differential role of protein kinase C as a therapeutical target in vascular calcification. The present research then addressed vascular calcification through a hyperglycemia-induced calcification model applied to VSMCs. Glucose promoted extracellular matrix calcification in a dose- and time-dependent manner and the lack of added glucose prevented VSMCs calcification. Glucose did not affect cellular viability, and CaP mineralization propensity in the cell culture medium. A multi-omics analysis using untargeted transcriptomics and metabolomics explored mechanistic pathways of hyperglycemia-induced vascular calcification. After multi-omics data integration, key players from the hypotaurine/taurine metabolic pathway were identified as central hubs of a novel reconstructed network. Several metabolites from the hypotaurine/taurine metabolic pathway also showed altered abundance in the analysis, and hypotaurine was one of the most regulated metabolites by glucose, secreted dose-dependently. In hyperglycemia-induced calcified VSMCs, blocking

hypotaurine production increased extracellular matrix mineralization while hypotaurine supplementation prevented calcification. Hypotaurine may exert its effect through proliferation and oxidative stress-mediated mechanisms. Thus, the multi-omics analysis suggested a functional role of the hypotaurine/taurine metabolic pathway in hyperglycemia-induced vascular calcification, pointing towards novel therapeutic targets that warrant further investigation.

II ZUSAMMENFASSUNG

Herz-Kreislauf-Erkrankungen (CVD) sind die weltweit häufigste Todesursache. Eine wichtige Komorbidität bei CVD Patienten ist Diabetes mellitus Typ 2 (T2DM), bei dem die Gefäßverkalkung einen wichtigen Risikofaktor darstellt. Trotz der, in den letzten Jahrzehnten erzielten Fortschritte bei der Behandlung und Diagnose von CVD, ist die Gefäßverkalkung nach wie vor ein bedeutender Risikofaktor, ohne dass es eine Pharmakotherapie gibt, die das Fortschreiten der Erkrankung verhindert oder verzögert. Fortschritte in der Multi-omics-Forschungsmethoden bieten die Möglichkeit, neue molekulare Netzwerke zu erforschen. Daher war das wissenschaftliche Ziel dieses Arbeit, den Mechanismus der erhöhten Gefäßverkalkung bei T2DM-Patienten besser zu verstehen. Dabei wurde das neue Konzept eines Multi-omics-Netzwerks angewandt, um neue Hypothesen für therapeutische Optionen zu entwickeln. Erstens wurde in dieser Arbeit ein effektiver Einsatz von bioinformatischen Tools in der Omics-Analyse unter Verwendung öffentlich zugänglicher Multi-omics-Datensätze bei kalzifizierter Aortenklappenerkrankung (CAVD) nachgewiesen. Die Integration der Multi-omics-Daten ergab ein neuartiges Netzwerk bei CAVD, das mit den Prozessen der Amyloid-Plaques-Bildung in Verbindung gebracht wurde. Darüber hinaus lieferte die Transkriptomik-Analyse, der durch Kalziumphosphat (CaP) induzierten Mineralisierung in glatten Gefäßmuskelzellen (VSMCs), eine Gensignatur, die als konzeptioneller Rahmen für mechanistische Untersuchungen diente. CaP-vermittelte Mineralisierung reduzierte die mitochondriale Atmung und Glykolyse in VSMCs. Eine Analyse zum „Repurposing“ von Medikamenten deutet auf eine differenzielle Rolle der Proteinkinase C als therapeutischer Angriffspunkt in der Gefäßkalzifizierung hin. Die vorliegenden Forschungsarbeit befassten sich weiter mit dem durch Hyperglykämie ausgelösten Verkalkungsmodell von VSMCs. Glukose förderte die Mineralisierung der extrazellulären Matrix dosis- und zeitabhängig, während das Unterlassen der Glukosestimulation mit einer Reduzierung der Mineralisierung von VSMCs einherging. Glukose hatte keinen Einfluss auf die zelluläre Viabilität. Eine Multi-Omics-Analyse, bei der ungezielte Transkriptomik und Metabolomik zum Einsatz kamen, zeigte mechanistische Signalwege, der durch Hyperglykämie ausgelösten Gefäßverkalkung, auf. Die Integration von Multi-omics-Daten identifizierte Schlüsselakteure des Hypotaurin-/Taurin-Stoffwechselweges als zentraler Knotenpunkte eines neuartigen rekonstruierten Netzwerks. Hypotaurin war einer, der

am stärksten durch Glukose regulierten, Metabolite, der dosisabhängig ausgeschieden wurde. Die Blockierung der Hypotaurinproduktion in Hyperglykämie-vermittelter VSMC Verkalkung führte zu einer verstärkten Mineralisierung der extrazellulären Matrix, während die Hypotaurinsupplementierung die Mineralisierung hemmte. Hypotaurin wirkt möglicherweise über Mechanismen, die durch Proliferation und oxidativen Stress vermittelt werden. Die Multi-omics-Analyse deutet also auf eine funktionelle Rolle des Hypotaurin/Taurin-Stoffwechselwegs, bei der durch Hyperglykämie ausgelösten Gefäßverkalkung, hin und gibt Hinweise auf neue therapeutische Ansatzpunkten, die weiter untersucht werden sollten.