Maastricht University

Matricellular proteins : essential modulators of cardiac remodeling

Citation for published version (APA):

Schellings, M. W. M. (2007). *Matricellular proteins : essential modulators of cardiac remodeling*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. https://doi.org/10.26481/dis.20071123ms

Document status and date:
Published: 01/01/2007

DOI:
10.26481/dis.20071123ms

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: 17 Apr. 2024

Summary

Myocardial infarction (MI) and chronic hypertension are two main risk factors for the development of heart failure, a disease that represents a major cause of mortality and morbidity in the Western world. Although treatment of MI and hypertension is improving, there is still need to gain more insight into the changes occuring in the heart due to these diseases. Recently, a new group of extracellular matrix proteins, the matricellular proteins, has been implicated in the regulation of wound healing. This thesis describes the role of a subset of matricellular proteins in the injured heart, and shows the anti-fibrotic properties of imatinib, an already clinically used anti-cancer drug. Overall, this thesis adds new knowledge regarding cardiac remodeling after MI or during hypertension, which may improve treatment of cardiac diseases.

In **chapter 2**, available literature on the function of matricellular proteins in the stressed heart is summarized. It discusses the potential roles of the matricellular proteins tenascin C, tenascin X, thrombospondin 1, thrombospondin 2, secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC), and osteopontin in the stressed heart. Today, several questions regarding the role of these proteins in the injured heart are answered and discussed in **chapter 8**.

Chapter 3 describes the function of the matricellular protein SPARC after MI. First, we show that SPARC protein expression is increased 3 days after MI, while peaking 14 days after MI. Strikingly, the absence of SPARC resulted in a significantly increased mortality after MI, due to cardiac rupture. Additionally, surviving SPARC KO mice have an impaired response to hemodynamic stress, as compared to wild-type mice. These features may be the consequence of the deposition of less qualitative collagen in the infarcts of SPARC KO mice, as shown by Sirius Red polarization. Also, MMP activity is increased in SPARC KO infarcts. In addition, TGFß signalling was impaired in SPARC knockdown fibroblasts, confirming SPARC as a modulator of TGFß signalling. Infusion of TGFß in SPARC KO animals improved survival after MI by preventing cardiac rupture. These findings show the crucial role of SPARC in regulating infarct healing through its effects on collagen maturation as well as on intracellular signalling.

In **chapter 4**, the function of the matricellular protein syndecan-1 after MI is described. Syndecan-1 expression readily increases after MI, reaching its maximum 7 days post-MI. The inflammatory response after MI was severely increased in syndecan-1 KO mice, resulting in an accelerated removal of necrotic cardiomyocytes, and replacement by granulation tissue. This was confirmed in vitro, by showing increased adhesion and transmigration of syndecan-1 KO

inflammatory cells. The increased inflammation and accelerated wound healing in syndecan-1 KO mice resulted in increased collagen deposition, but of impaired quality, which is related to increased matrix metalloproteinase activity. Together, this resulted in cardiac dilatation and dysfunction in syndecan-1 KO mice after MI. In contrast, syndecan-1 overexpression in WT mice decreased inflammation, and improved the quality of collagen deposition, resulting in an improved cardiac function. This study reveals an important role for syndecan-1 in mediating cardiac healing after MI.

The importance of syndecan-1 as a modulator of cardiac remodelling was confirmed in a model of chronic hypertension, as described in **chapter 5**. Importantly, lack of syndecan-1 is beneficial in this model of cardiac stress, by decreasing the amount of cardiac fibrosis. The direct involvement of syndecan-1 in profibrotic signalling was confirmed in vitro. Knockdown of syndecan-1 in cardiac fibroblasts significantly attenuated the expression of the profibrotic protein connective tissue growth factor (CTGF) after angiotensin II of TGFß stimulation, whereas overexpression of syndecan-1 increased CTGF expression. Therefore, syndecan-1 might be a new therapeutic target for decreasing cardiac fibrosis during hypertension.

After investigating the modulatory role of matricellular proteins on intracellular signalling, we addressed the importance of intracellular signalling in the development of cardiac fibrosis more directly in **chapter 6**. Imatinib, a successful anti-cancer drug, directly inhibits the kinase activity of the platelet-derived growth factor receptor-ß. Hypertensive homozygous Ren2 rats treated with imatinib developed less cardiac fibrosis than placebo-treated Ren2 rats, which was accompanied by a better cardiac function. Also, kidneys of Ren2 rats were protected by imatinib treatment. The anti-fibrotic properties of imatinib were confirmed in vitro. The clinical implications of these results are highlighted in **chapter 7**.

In conclusion, this thesis describes the importance of matricellular proteins during cardiac remodeling after MI or during hypertension. It also highlights the potential of matricellular proteins to influence intracellular signalling, and shows that specific inhibition of signalling pathways has beneficial effects. This newly obtained knowledge increases our insight in the development of these diseases, which may have important therapeutic implications.

Samenvatting

Het krijgen van een hartinfarct en chronische hypertensie zijn twee belangrijke risicofactoren voor de ontwikkeling van hartfalen, een ziekte die een grote oorzaak is van mortaliteit en morbiditeit in de westerse wereld. Hoewel de behandeling van een hartfinfarct en hypertensie steeds beter wordt, is het nog steeds nodig om meer inzicht te krijgen in de veranderingen die door deze ziekten optreden in het hart. Recentelijk is aangetoond dat een nieuwe groep extracellulaire matrix eiwitten, de matricellulaire eiwitten, betrokken is bij de regulatie van wondheling. Dit proefschrift beschrijft de rol van enkele matricellulaire eiwitten in het zieke hart en toont aan dat imatinib, een geneesmiddel tegen kanker dat al in de kliniek gebruikt wordt, anti-fibrotische eigenschappen heeft. Dit proefschrift voegt nieuwe kennis toe over cardiale remodelering na een hartinfarct of tijdens chronische hypertensie, waardoor de behandeling van deze ziekten verbeterd kan worden.

In **hoofdstuk 2** wordt de beschikbare literatuur over de functie van matricellulaire eiwitten in het zieke hart samengevat. De potentiële functies van de matricellulaire eiwitten tenascin C, tenascin X, thrombospondin 1, thrombospondin 2, secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) en osteopontin in het zieke hart worden ook besproken. Verschillende vragen omtrent de functie van deze eiwitten in het zieke hart zijn inmiddels beantwoord en worden besproken in **hoofdstuk 8**.

Hoofdstuk 3 beschrijft de functie van het matricellulaire eiwit SPARC na een hartinfarct. Om te beginnen tonen we aan dat de eiwitexpressie van SPARC toeneemt 3 dagen na het infarct en maximaal is op dag 14 na het infarct. De afwezigheid van SPARC zorgt voor een toename van de mortaliteit na een hartinfarct, veroorzaakt door een toename in cardiale ruptuur. Ook vertonen overlevende SPARC KO muizen, vergeleken met wildtype muizen, een gebrekkige respons op hemodynamische stress. Deze zaken kunnen het gevolg zijn van de depositie van minder kwalitatief collageen in het infarctgedeelte van de SPARC KO muizen, zoals we aantonen met Sirius Rood polarisatie. Ook de activiteit van MMP's is verhoogd in de SPARC KO infarcten. SPARC knockdown fibroblasten vertoonden een verminderde TGFß signalering, daarmee bevestigend dat SPARC een modulator van TGFß signalering is. Infusie van TGFß in SPARC KO dieren verbeterde de overlevingskansen na een infarct door cardiale ruptuur te voorkomen. Samen laten deze bevindingen zien dat SPARC een cruciale rol speelt in de regulatie van infarctheling door zijn effecten op collageenmaturatie en intracellulaire signalering.

In **hoofdstuk 4** wordt de functie van het matricellulaire eiwit syndecan-1 na een hartinfarct beschreven. De expressie van syndecan-1 neemt snel toe na een

infarct en piekt na 7 dagen. De inflammatoire respons na een hartinfarct was ernstig verhoogd in syndecan-1 KO muizen, resulterend in een versnelde ruiming van necrotische cardiomyocyten en vervanging door granulatieweefsel. Deze bevindingen werden in vitro bevestigd door verhoogde adhesie en transmigratie aan te tonen in syndecan-1 KO inflammatoire cellen. De verhoogde inflammatie en versnelde wondheling in syndecan-1 KO muizen resulteerde in een verhoogde depositie van collageen, maar van een slechtere kwaliteit, wat is gerelateerd aan de verhoogde matrix metalloproteinase activiteit in syndecan-1 KO infarcten. Samen zorgden deze veranderingen voor cardiale dilatatie en dysfunctie in syndecan-1 KO dieren na een hartinfarct. Tegenovergesteld zorgde syndecan-1 overexpressie in WT muizen voor een verlaagde inflammatie en een betere collageen kwaliteit, resulterend in een verbeterde cardiale functie. Deze studie laat een belangrijke rol zien voor syndecan-1 in de regulatie van wondheling na een hartinfarct.

Het belang van syndecan-1 als een modulator van cardiale remodelering werd bevestigd in een model van chronische hypertensie, zoals beschreven in **hoofdstuk 5**. Interessant genoeg is het missen van syndecan-1 juist goed in dit model van cardiale stress door het verminderen van de hoeveelheid cardiale fibrose. De directe betrokkenheid van syndecan-1 in profibrotische signalering werd bevestigd in vitro. Syndecan-1 knockdown in cardiale fibroblasten verminderde de expressie van het profibrotische eiwit connective tissue growth factor (CTGF) significant na angiotensine II of TGFß stimulatie, terwijl overexpressie van syndecan-1 CTGF expressie verhoogde. Deze resultaten tonen aan dat syndecan-1 een nieuw therapeutisch doel kan zijn om de ontwikkeling van cardiale fibrose te verminderen tijdens hypertensie.

Na de modulerende rol van matricellulaire eiwitten op intracellulaire signalering hebben we het belang van intracellulaire signalering in de ontwikkeling van cardiale fibrose meer direct bestudeerd in **hoofdstuk 6**. Imatinib, een succesvol medicijn tegen kanker, blokkeert specifiek de kinase activiteit van de platelet-derived growth factor receptor-ß (PDGFR-ß). Hypertensieve homozygote Ren2 ratten die behandeld werden met imatinib ontwikkelden minder cardiale fibrose dan Ren2 ratten met een controle behandeling en hadden ook een betere cardiale functie. Ook beschermde behandeling met imatinib tegen nierschade in de Ren2 ratten. De antifibrotische eigenschappen werden bevestigd in vitro. De klinische implicaties van deze resultaten worden belicht in **hoofdstuk 7**.

Concluderend beschrijft dit proefschrift het belang van matricellulaire eiwitten tijdens cardiale remodelering na een hartinfarct of tijdens hypertensie. Daarnaast benadrukt dit proefschrift de potentie van matricellulaire eiwitten om intracellulaire signalering te beinvloeden en toont aan dat specifieke remming

van PDGFR-ß een gunstig effect heeft. Deze nieuw verkregen kennis vergroot ons inzicht in de ontwikkeling van deze ziekten en kan daarom belangrijke therapeutische implicaties hebben.