

Effects of macrophage activation and galectin-3 expression in hypertension-induced cardiac dysfunction

Citation for published version (APA):

Sharma, U. C. (2005). *Effects of macrophage activation and galectin-3 expression in hypertension-induced cardiac dysfunction*. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20051221us>

Document status and date:

Published: 01/01/2005

DOI:

[10.26481/dis.20051221us](https://doi.org/10.26481/dis.20051221us)

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.

Summary

Although hypertension leads to left ventricular hypertrophy, not all hypertrophied hearts ultimately transit to develop heart failure. Hypertensive hearts initially adapt to an increased workload by increasing the size of myocytes and altering the level of matrix composition. More importantly, the failing myocardium shows increased expression of cell adhesion molecules, local infiltration of macrophages and local and systemic surge of various cytokines. In addition, the failing hearts show the abundant fibrillar collagen deposition. Inflammatory mediators induce progressive damage of the myocardium, adversely affect the contractile ability and finally trigger fibrosis. Excess collagen renders the ventricles stiffer and heterogeneous, thus increasing the propensity to develop rapid functional deterioration. Although macrophages are the uniform accompaniments of failing hearts, we lack a clear evidence to show whether their presence is detrimental or protective. Evidence gathers for the detrimental role of macrophages in heart failure, but at the same time, antagonizing the cytokines primarily produced by macrophages or depleting macrophages from the system, leads to worsened cardiac function and increased mortality. In this thesis we dissect the beneficial vs. detrimental effects of macrophages and suggest novel strategies to specifically target the molecules that contribute to the development of cardiac function, while sparing the immune-regulatory and homeostatic effects of macrophages.

Chapter 1 comprises the general introduction to the thesis and a short description of the Ren-2 rat model that was used to perform most of the experiments described in this thesis. This chapter also briefly discusses about the unbiased (genomic) and hypothesis-driven approaches to identify novel molecules involved in heart failure and their potential role to initiate the process of cardiac dysfunction before heart failure is clinically overt. In addition, this chapter describes the role of macrophages to scavenge the tissue debris and immune complexes.

Chapter 2 analyzes and critically discusses the database presented from 14 published studies that showed the gene expression profile in heart failure using microarray as a primary tool. After comparing the diverse database from these studies, it explains the protein translational, matricellular, immunological and fibrosis-related mechanisms in HF. In addition to previously annotated genes, this work analyzes two differentially expressed Expressed Sequence Tags (ESTs) (KIAA0152 and SGT1) in HF and shows how bio-informatic analysis of ESTs can lead to the identification of novel pathways active in HF.

Chapter 3 describes the cDNA microarray strategies to identify the differentially expressed genes during the transition from compensated hypertrophy to heart failure in homozygous Ren-2 rats.

Many of the identified genes have been reported to encode proteins with known functions whereas others correspond to genes of unknown functions, including novel genes previously not implicated in HF. Galectin-3 was identified as the most robustly overexpressed gene in heart failure.

Chapter 4 documents that increased expression of the macrophage-derived mediator galectin-3 is already apparent in the stage of compensated hypertrophy of failure-prone hearts, before they progress to overt failure. This also demonstrates that galectin-3 induces HF in normal rats. These findings indicated that inflammatory and pro-fibrotic mediators can be viable therapeutic targets in HF.

Chapter 5 explains about a novel technique that can be used to visualize the apoptosis-specific membrane changes in the monocytes and macrophages. This chapter describes the clodronate-induced membrane apoptotic changes in monocytes and macrophages *in vivo*, in which Anx-V-Oregon green is used as the detection probe.

Chapter 6 is devoted to explain the findings of macrophage depletion and its impact on cardiac function in hypertension-induced cardiac hypertrophy. Macrophage-depleted hearts show deteriorated cardiac function, excess helper T-lymphocyte infiltration and focal loss of cardiomyocytes. In addition, the sera from these animals harbor autoantibodies that are reactive against heat shock protein-47, a highly immunogenic protein expressed by cardiac fibroblasts and cardiomyocytes.

Chapter 7 demonstrates that targeted deletion of galectin-3 gene in a mouse model with Ang II infusion results in preserved cardiac function and prevention of Ang II-induced collagen deposition in the myocardium. Infusion of galectin-3 in a rat model leads to cardiac collagen deposition, *Egr-1* expression and functional deterioration. Deletion of *Egr-1* expression by siRNA prevents the galectin-3-induced cardiac fibroblast proliferation and collagen I production in cultured rat cardiac fibroblasts.

In conclusion, this thesis unravels how macrophages are involved in the pathogenesis of heart failure and demonstrates an unsuspected and novel mechanism of early macrophages activation in failure-prone hypertrophied hearts. Galectin-3 is a critical macrophage-derived cytokine that mediates the process of myocardial cellular growth, collagen deposition and ultimately, cardiac dysfunction. However, macrophages are physiologically important because these cells are crucial for immune homeostasis. Research is in progress to specifically block the effect of galectin-3 and check whether this strategy would protect against or reverse the cardiac functional deterioration induced by high angiotensin II.

Samenvatting

Hoewel hypertensie tot linker ventrikel hypertrofie leidt, wil dat niet zeggen dat alle hypertrofische harten uiteindelijk hartfalen ont wikkelen. Bij hoge bloeddruk past het hart zich aanvankelijk aan een verhoogde werkbelasting aan, door vergroting van myocyten en door de matrixsamenstelling aan te passen. Wat nog belangrijker is dat in het falend hartwefsel, de expressie van celadhesie moleculen wordt verhoogd, lokale infiltratie van macrofagen plaats vindt en modulatie van diverse cytokines op lokaal en systemisch niveau. Bovendien vertonen falende harten overvloedige vezelachtige collageendepositie. De ontstekingsmediatoren veroorzaken progressieve schade aan het myocardium, beïnvloeden op een ongunstige wijze de contractiliteit en brengen tot slot verbindweefseling teweeg. Het bovenmatig collageen maakt de ventrikels stijver en heterogeen, hetgeen snelle functionele achteruitgang bevordert. Hoewel macrofagen in falende harten altijd aanwezig zijn, ontbreekt hard bewijs dat duidelijk maakt of hun aanwezigheid een schadelijke of beschermende rol speelt. Ondanks dat bewijs voor een schadelijke rol van macrofagen in hartfalen toeneemt, blijkt depletie van macrofagen of het antagoneren van cytokines die hoofdzakelijk door macrofagen worden geproduceerd te leiden tot verslechtering van de hartfunctie en toename van de mortaliteit. In dit proefschrift ontleden wij de voordelig versus de schadelijke gevolgen van macrofagen en stellen we nieuwe strategieën voor om specifiek die moleculen die bijdragen tot ontwikkeling van hartfalen te attaqueren, terwijl de immuno-regulatoire en homeostatische effecten van macrofagen worden gespaard.

Hoofdstuk 1 bestaat uit de algemene inleiding van dit proefschrift en uit een korte beschrijving van het Ren-2 ratten model dat werd gebruikt om de meeste experimenten beschreven in dit proefschrift, uit te voeren. Dit hoofdstuk bespreekt ook kort de onbevooroordeelde (genomic) en de hypothese-gedreven benaderingen om nieuwe moleculen te identificeren betrokken bij hartfalen en bespreekt hun potentiële rol bij de initiatie van processen die lijden tot hartfalen, voor het klinisch evedent is geworden. Bovendien beschrijft dit hoofdstuk de rol van macrofagen bij het opruimen van weefselpuin en immuuncomplexen.

Hoofdstuk 2 bespreekt en analyseert kritisch het gegevensbestand samengesteld uit 14 gepubliceerde studies die allen genexpressie profielen tijdens hartfalen bestudeerden, primair met behulp van microarray. Na het vergelijken van de diverse gegevensbestanden van deze studies, worden in dit hoofdstuk de eiwit vertalende, matricellulaire, immunologische en de fibrose gerelateerde mechanismen in hartfalen uitgelegd. Naast eerder geannoteerde genen, analyseert dit werk twee differentieel tot expressie gebrachte Uitgedrukte Markeringen van de Opeenvolging

(ESTs) (KIAA0152 en SGT1) in HF en toont aan hoe de bio-informatic analyse van ESTs tot de identificatie van nieuwe wegen kan leiden actief in HF. **Hoofdstuk 3** beschrijft cDNA microarray strategieën om de tijdens de overgang van gecompenseerde hypertrofie naar hartfalen differentieel uitgedrukte genen te identificeren, in homozygote Ren-2 ratten. Van veel van de geïdentificeerde genen is beschreven dat zij coderen voor eiwitten met een bekende functie terwijl anderen corresponderen met genen met onbekende functies, inclusief nieuwe genen niet die eerder bij HF zijn beschreven. Galectin-3 werd aangewezen als het meest krachtig tot overexpressie gebrachte gen in hartfalen. **Hoofdstuk 4** documenteert dat toegenomen expressie van de macrophage-afgeleide mediator galectin-3 reeds duidelijk is in het stadium van gecompenseerde hypertrofie van mislukking-naar voren gebogen harten, alvorens zij hartfalen ontwikkelen. Dit laat ook zien dat galectin-3 hartfalen bij normale ratten veroorzaakt. Deze bevindingen wijzen erop dat de ontstekingsmediatoren- en fibrotische bevorderende mediators reële aanknopingspunten kunnen zijn bij de behandeling van hartfalen.

Hoofdstuk 5 bespreekt een nieuwe techniek die kan worden gebruikt om apoptose-specifieke membraanveranderingen in monocyt en macrofagen te visualiseren. Dit hoofdstuk beschrijft de clodronate-geïnduceerde membraan apoptotische veranderingen in monocyt en macrofagen in vivo, waarbij Annexine V Oregon Green als detectielabel wordt gebruikt.

Hoofdstuk 6 is toegewijd aan de bevindingen na macrofagen depletie en het effect hiervan op de hartfunctie in hypertensie-veroorzaakte (hart)hypertrofie. De macrophage-uitgeputte harten vertonen een verslechterde hartfunctie, bovenmatige helper T-Lymfocyt infiltratie en haardvormig verlies van cardiomyocytes. Bovendien, bevat het serum van deze proefdieren autoantilichamen tegen heat shock eiwit-47, een hoogst immunogeen eiwit dat door cardiale fibroblasten en cardiomyocytes tot expressie wordt gebracht.

Hoofdstuk 7 toont aan dat de gerichte uitschakeling van het galectin-3 gen in een muismodel met de infusie van Angiotensine II, resulteert in behoud van de hartfunctie en preventie van Ang II-gemedieerde collageendepositie in het myocardium. De infusie van galectin-3 in een rattenmodel leidt tot cardiale collageen depositie, Egr-1 expressie en functionele verslechtering. De schrapping van egr-1 expressie door middel van siRNA verhindert galectin-3-gemedieerde cardiale fibroblastenproliferatie en collageen I productie in in kweek gebrachte ratten cardiale fibroblasten. Samenvattend, ontrafelt deze thesis hoe macrofagen bij de pathogenese van hartfalen betrokken zijn en legt een onverwachte en nieuw mechanisme van vroege macrofagen activering in mislukking-

naar voren gebogen hypertrophied harten bloot. Galectin-3 is een essentiële van macrofagenafgeleide cytokine die het proces van de myocardiale cellulaire groei, collageendepositie en uiteindelijk, cardiale disfunctie dirigeert. Nochtans, zijn macrofagen fysiologisch belangrijk omdat deze cellen voor immuun homeostase essentieel zijn. Experimenten zijn in ingang) die de mogelijkheden tot specifieke blokkering van galectin-3 bestuderen en die onderzoeken of deze strategie het hart beschermt tegen functionele verslechtering of functieverlies veroorzaakt door hoge angiotensine II-spiegels weet te herstellen.