

Regulation of skeletal muscle recovery

Citation for published version (APA):

Kneppers, A. (2018). *Regulation of skeletal muscle recovery: Implications for COPD*. ProefschriftMaken Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20181221ak>

Document status and date:

Published: 01/01/2018

DOI:

[10.26481/dis.20181221ak](https://doi.org/10.26481/dis.20181221ak)

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

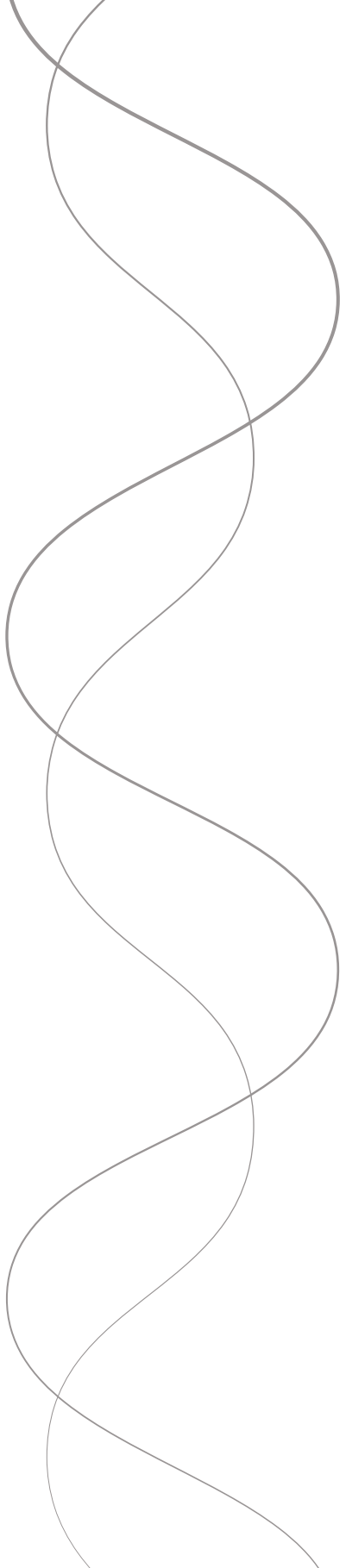
Take down policy

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

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

SUMMARY
SAMENVATTING



SUMMARY

The progressive loss of skeletal muscle mass and function is frequently observed in elderly and patients with chronic diseases such as Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). This may lead to sarcopenia, which affects physical functioning and metabolic health. The prevention and treatment of sarcopenia requires a better understanding of the underlying cellular and molecular pathobiology. Although skeletal muscle catabolic processes have been broadly studied, a potential role for impaired skeletal muscle recovery in the development of sarcopenia is still underexplored. In this thesis, we therefore set out the development and use of novel strategies for the assessment of molecular disturbances in the regulation of skeletal muscle mass and quality in COPD patients, and discuss the implications for the development of COPD-related muscle pathology.

To establish the current knowledge on the molecular alterations underlying muscle atrophy in COPD, we reviewed recent insights in the diagnosis and pathophysiology of muscle wasting in COPD (**Chapter 2**). Based on the available literature, we found indications for skeletal muscle molecular signaling towards increased protein degradation and protein synthesis, as well as increased myogenesis signaling, in muscle wasted COPD patients.

However, the available studies had either a limited sample size, or focused solely on either protein degradation or protein synthesis signaling. Furthermore, the role of myogenesis in muscle mass maintenance was incompletely assessed. To further establish the coordination and differential regulation of protein degradation and synthesis, as well as myogenesis, we analyzed an extensive panel of molecular regulators and mediators of these processes in skeletal muscle biopsies of a large, well-phenotyped cohort, and compared expression patterns in COPD patients with and without muscle wasting, and healthy controls (**Chapter 3**). While ubiquitin proteasome system (UPS) signaling was unaltered, indices of UPS regulation, autophagy signaling, and protein synthesis signaling were increased in COPD. These alterations were even more pronounced in muscle wasted COPD patients. Furthermore, myogenic signaling was increased in COPD, with no further alterations in muscle wasted COPD patients. We propose that this pattern of molecular alterations reflects ongoing muscle repair and remodeling. However, it remains unknown to what extent these alterations in basal skeletal muscle molecular signaling affect the coordination between anabolic signaling and the anabolic response required for skeletal muscle recovery after disuse.

To identify and target factors that may hamper skeletal muscle recovery during resumed physical activity following disuse, a better understanding of the interrelationship between the regulation of muscle mass and metabolic plasticity during reloading-induced recovery is imperative. We explored these relations by measuring a selected set of molecular regulators and mediators of muscle mass- and oxidative metabolism-related processes, and studied their interrelationship during reloading-induced recovery following disuse in both humans and rodents (**Chapter 4**). We showed through the combination of a cluster analysis and high-resolution time-course study, that the molecular regulation of protein turnover, mitochondrial turnover, and myonuclear turnover are correlated and temporally associated during recovery from atrophy.

As these findings suggest an interdependency or joint regulation of these muscle mass- and oxidative metabolism-related processes during recovery from atrophy, we next used an unbiased integrative approach to identify groups of COPD patients with a differential skeletal muscle molecular response to pulmonary rehabilitation (**Chapter 5**). We identified two major patient clusters that differed in pulmonary rehabilitation-induced Autophagy, Myogenesis, Glucocorticoid signaling, and Oxidative metabolism regulation. Cluster 1 displayed a more pronounced change in marker expression than Cluster 2, which was accompanied by a more pronounced functional improvement upon pulmonary rehabilitation.

The *in vivo* studies in this thesis clearly indicated a coordinated regulation of myogenesis during muscle mass and metabolic plasticity, and provided indications for altered myogenesis signaling in COPD patients. To further elucidate the role and regulation of postnatal myogenesis in skeletal muscle mass and metabolic plasticity, we developed an *in vitro* model that better reflects *in vivo* postnatal myonuclear accretion (**Chapter 6**). This yielded a validated, physiologically relevant, sensitive, high-throughput, Cre/LoxP-based cell system to semi-quantitatively assess *in vitro* postnatal myonuclear accretion by the conditional expression of luciferase upon myoblast–myotube fusion. Next, we used this *in vitro* model to study the role and regulation of postnatal myogenesis in non-hypertrophic skeletal muscle adaptation and recovery (**Chapter 7**). We showed that recovery from myotube metabolic stress or atrophy increased *in vitro* postnatal myonuclear accretion, and found indications that, specifically during recovery from metabolic stress, this is mediated by AMPK/FGF21 signaling.

In the final chapter, we address the implications of the findings presented in this thesis, and define important goals for research in this area (**Chapter 8**). The studies described

Summary

in this thesis collectively indicate that postnatal myogenesis plays an important role in the regulation of muscle mass and metabolic plasticity, and that dysregulation of this process may be central in the development of COPD-related muscle pathology. To date, exercise training remains the most comprehensive and effective intervention to improve skeletal muscle mass and function in COPD patients. However, to better understand the variability in the exercise/rehabilitation response and the association with the progressive loss of muscle mass and function, future studies should include the characterization of baseline differences, and the sequential rehabilitation-induced modification of satellite cell niche components in patients with COPD. Thereby, we may be able to select training modalities, potentially with other co-interventions, that most potently improve the rehabilitation response in specific patient groups.

SAMENVATTING

Sarcopenie is een syndroom dat gekenmerkt wordt door verlies van massa en functie van de skeletspieren en dat veel voorkomt bij ouderen en bij patiënten met de chronische longziekte COPD. Om sarcopenie te kunnen voorkomen en behandelen is een beter begrip van de onderliggende cellulaire en moleculaire mechanismen vereist. Eerder spierbiologisch onderzoek richtte zich vooral op afbraakprocessen. Een mogelijke rol voor een verstoord skeletspierherstel na spiermassa verlies in de ontwikkeling van sarcopenie is tot op heden echter onderbelicht. In dit proefschrift passen we nieuwe strategieën toe voor de bestudering van moleculaire stoornissen in de regulatie van skeletspiermassa en -kwaliteit bij COPD-patiënten.

Allereerst hebben we een literatuuronderzoek gedaan naar de meest recente inzichten in de diagnose en pathofysiologie van COPD-gerelateerd spiermassaverlies (**Hoofdstuk 2**). Op basis van de beschikbare literatuur vonden we aanwijzingen voor een moleculaire signalering duidend op een verhoogde spiereiwitafbraak en spiereiwitaanmaak, alsook een verhoogde signalering van de ontwikkeling van spierweefsel, de zogenaamde myogenese, bij COPD-patiënten met een lage spiermassa. De beschikbare studies hadden echter een beperkte steekproefomvang, of bestudeerden enkel eiwitaanmaak dan wel eiwitafbraak signalering. Daarnaast werd de rol van myogenese in het behoud van spiermassa in deze studies onderzocht met behulp van een zeer beperkt aantal moleculaire markers.

Om de afstemming en veranderde regulatie van eiwitafbraak en –aanmaak alsook myogenese in COPD patiënten verder te onderzoeken, hebben we een uitgebreid panel van moleculaire regulatoren en mediators van deze processen bestudeerd in stukjes spierweefsel van een grote groep COPD patiënten. Hierin vergeleken we de expressiepatronen van deze markers tussen COPD-patiënten met een normale en een lage spiermassa, alsook met die van gezonde proefpersonen (**Hoofdstuk 3**). Hoewel er geen grote verschillen vastgesteld werden in expressie van componenten van de afbraakmachinerie, waaronder het ubiquitine proteasoom systeem (UPS) en autofagie, duiden de markers van regulatie op een verhoogde capaciteit om deze processen te kunnen activeren in de spier van COPD patiënten. Daarnaast was ook de eiwitaanmaak signalering verhoogd in COPD patiënten. De veranderingen in eiwitafbraak en eiwitaanmaak signalering waren zelfs nog meer uitgesproken in COPD-patiënten met een lage spiermassa. Bovendien was de myogenese signalering verhoogd in zowel COPD-patiënten met normale spiermassa als die met een lage spiermassa. We suggereren dat dit patroon van moleculaire veranderingen de

aanwezigheid van voortdurende spierreparatie en –remodelering reflecteert. Het blijft echter onbekend in hoeverre deze basale veranderingen in de moleculaire signalering van invloed zijn op de afstemming tussen de anabole signalering en de daadwerkelijke anabole respons die nodig is voor skeletspierherstel na inactiviteit.

Veranderingen in fysieke activiteit gaan, naast veranderingen in spiermassa, gepaard met aanpassingen in het energiemetabolisme. Om belemmerende factoren voor het herstel van skeletspieren na fysieke inactiviteit te kunnen identificeren en gericht te kunnen beïnvloeden, dienen we de onderlinge relatie tussen de regulatie van spiermassa en metabole plasticiteit tijdens spierherstel beter te begrijpen. We hebben dit onderzocht door, in zowel mensen als muizen, geselecteerde moleculaire regulatoren en mediators te meten die een rol spelen in de regulatie van spiermassa en oxidatief metabolisme, en vervolgens hun onderliggende samenhang te bestuderen tijdens spierherstel na inactiviteit (**Hoofdstuk 4**). Door middel van een clusteranalyse, gecombineerd met een gedetailleerde analyse van het verloop in de tijd, toonden we aan dat de moleculaire regulatie van de vervanging van eiwitten, mitochondriën en spiervezelkernen, samenhang vertoont tijdens het herstel van atrofie.

Deze bevindingen duiden op een onderliggende afhankelijkheid of gedeelde regulatie van spiermassa- en oxidatief metabolisme gerelateerde processen tijdens het herstel van atrofie. Daarom hebben we vervolgens een objectieve, integrerende statistische benadering gebruikt om clusters van COPD-patiënten te onderscheiden die van elkaar verschilden in de moleculaire skeletspierrespons op longrevalidatie (**Hoofdstuk 5**). Hiermee werden twee belangrijke patiënt clusters onderscheiden, welke verschilden in de revalidatie-geïnduceerde regulatie van Autofagie, Myogenese, Glucocorticoïd signalering en Oxidatief metabolisme. Cluster 1 vertoonde een meer uitgesproken verandering in expressiepatronen dan Cluster 2, wat tevens gepaard ging met een meer uitgesproken functionele verbetering na longrevalidatie.

De studies beschreven in dit proefschrift wijzen duidelijk op een gecoördineerde regulatie van myogenese tijdens actieve veranderingen in spiermassa en metabolisme, en wijzen op een veranderde myogenese signalering in COPD-patiënten. Om de rol en regulatie van postnatale myogenese in de plasticiteit van skeletspiermassa en –metabolisme verder te doorgronden, hebben we een celkweek model ontwikkeld dat de postnatale aanwas van spiervezelkernen die in de spier plaatsvindt beter weerspiegelt (**Hoofdstuk 6**). We ontwikkelden en valideerden een genetisch gemodificeerd celkweekstelsel waarmee we postnatale celkernaanwas semi-kwantitatief kunnen bepalen door het meten van de conditionele expressie

van een marker-enzym na de fusie van spierstamcellen met gekweekte spiervezels. Deze efficiënte, fysiologisch relevante, en gevoelige methode hebben we vervolgens gebruikt om de rol en regulatie van postnatale myogenese in skeletspieradaptatie en -herstel te bestuderen (**Hoofdstuk 7**). In dit hoofdstuk hebben we aangetoond dat het herstel van spiervezels niet enkel na atrofie, maar ook na metabole stress, gepaard gaat met een verhoogde postnatale aanwas van spiervezelkernen. Bovendien vonden we aanwijzingen dat, specifiek tijdens het herstel van metabole stress, dit gemedieerd wordt door AMPK/FGF21-signalering.

In het laatste hoofdstuk bespreken we de implicaties van de bevindingen gepresenteerd in dit proefschrift, en definiëren we aandachtspunten voor vervolgonderzoek (**Hoofdstuk 8**). Samen tonen de studies beschreven in dit proefschrift aan dat postnatale myogenese een belangrijke rol speelt in de regulatie van spiermassa en metabole plasticiteit, en dat ontregelingen van deze processen mogelijk bijdragen aan de ontwikkeling van COPD-gerelateerde spierpathologie. Tot op heden blijft fysieke training de meest omvattende en effectieve interventie om de skeletspiermassa en -functie bij COPD-patiënten te verbeteren. Echter, voor een beter begrip van de variabiliteit van de respons op inspanning en longrevalidatie, en hoe deze bijdraagt aan het progressieve verlies van spiermassa en -functie in patiënten met COPD, zou toekomstig onderzoek zich moeten richten op het karakteriseren van basale verschillen, en verschillen in de tijdsafhankelijke revalidatie-geïnduceerde aanpassingen van componenten van de spierstamcel omgeving. Met deze kennis kunnen we in de toekomst mogelijk de revalidatie respons verbeteren, door de trainingsmodaliteiten af te stemmen op specifieke patiëntgroepen of te combineren met aanvullende behandelingen.