

Metabolic rewiring of the failing heart

Citation for published version (APA):

Kuhn, A-R. (2021). *Metabolic rewiring of the failing heart: unravelling cause and effect*. Ridderprint. <https://doi.org/10.26481/dis.20211118ak>

Document status and date:

Published: 01/01/2021

DOI:

[10.26481/dis.20211118ak](https://doi.org/10.26481/dis.20211118ak)

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

Heart failure (HF) is a global health problem of epidemic proportions currently affecting more than 37 million people and rising in prevalence. Although strides have been made to both decipher the mechanisms driving HF progression and improve treatment options, our pathophysiological understanding of this disease is still incomplete. Alterations in cardiac substrate metabolism are increasingly recognized as important contributors to cardiac disease, including heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF), but the exact implication of metabolism in the individual cardiac cell types remains elusive and successful treatment strategies are lacking. Therefore, the main aim of this thesis is to address this knowledge gap by exploring if alterations in cardiac metabolism are involved in the pathogenesis of heart failure.

In **chapter 2** we examine cardiac metabolic pathways past their role as suppliers of ATP for contraction and relaxation of the heart. To this end, we review the influence of cardiac metabolic changes on phenotype and function of different cardiac cell types and of the diseased heart and discuss how this may contribute to heart failure development.

Through network analyses, mass spectrometry imaging (MSI) and 'omics-techniques' we delve into cardiometabolic changes in MetS-induced HFpEF in the ZSF1-Obese rat. **Chapter 3** describes a novel RNA-Seq based cardiome-directed network analysis approach, allowing insights into the global pathophysiological processes at play in HFpEF and highlighting mitochondrial metabolism as highly relevant and prominently altered. In **chapter 4** we observe overall cardiometabolic rewiring upon HFpEF, including fatty acid-associated metabolism. Most notably, we document that MetS-associated HFpEF is strongly associated with a dysfunctional mitochondrial oxidative metabolism involving reductions in the mitochondrial phospholipid species cardiolipin, and derangements at the level of both the tricarboxylic acid cycle and the electron transport chain.

We study the influence of metabolic modulation on fibroblast activation and transdifferentiation in **chapter 5**. First, it is shown that the transdifferentiation of fibroblasts to myofibroblasts is associated with an increased glycolysis. Next, through drug-mediated glycolytic modulation, we document that metabolic interventions can effectively alter fibroblast phenotype and functions and also impact cytokine production by these cells. Additionally, we document distinct metabolite patterns in the fibroblast-rich infarct zone of rat hearts in acute and subacute phases of infarct healing with MSI.

The cardiac impact of inhibition of miR-103/107, regulating insulin sensitivity and glucose metabolism, is assessed in **chapter 6**. Our data indicate that antagonomiR-103/107 affect cardiac metabolism and decrease cardiac function in otherwise healthy mice. On the cellular level, cardiomyocyte size as well as mitochondrial morphology are affected. Moreover, mitochondrial respiratory capacity and membrane potential decrease in response to miR-

103/107 inhibition *in vitro*, indicating that this antagomiR has adverse effects of cardiac metabolism and function.

Chapter 7 provides a more detailed discussion of our experimental findings and expands on opportunities for further research.

In conclusion, the findings in this thesis expand the current knowledge of heart failure pathophysiology, in particular the contribution of cardiometabolic alterations in HFpEF development. We demonstrate that mitochondrial metabolism is a highly affected process in HFpEF and that cellular metabolism and phenotypical remodeling can be regarded as bidirectional processes impacting each other. These findings may aid in the development of therapeutic strategies in the future.

Samenvatting

Hartfalen (HF) betreft meer dan 37 miljoen mensen wereldwijd en door de stijgende prevalentie is deze ziekte een ernstig volksgezondheidsprobleem. Hoewel veel onderzoek gedaan wordt om de oorzaken van hartfalenontwikkeling te ontcijferen, is onze kennis van de onderliggende pathofysiologische mechanismen niet compleet. Veranderingen in stofwisselingsprocessen van het hart worden meer en meer als belangrijke bijdragers in het ontwikkelen van hartziekten gezien, onder andere ook van hartfalen met behouden ejectiefractie (HFpEF). Het belang van het metabolisme in de individuele cel types van het hart blijft moeilijk te definiëren en beperkt daardoor behandelingsstrategieën. Het hoofddoel van deze thesis was daarom het kennisgebrek te verkleinen door veranderingen in cardiale metabolisme in de pathogenese van hartfalen te onderzoeken.

In **hoofdstuk 2** bestuderen wij de belangrijke stofwisselingsroutes van het hart naast hun rol als voorzieners van ATP voor hartcontractie en relaxatie. Hierbij bediscussiëren wij de invloed van metabole veranderingen in verschillende hartceltypes op hun fenotype en functie en hoe dit tot de ontwikkeling van hartfalen zou kunnen bijdragen.

Wij onderzoeken cardiometabole veranderingen in het hart van de ZSF1-obees rat, een model van HFpEF geïnduceerd door het metabool syndroom (MetS), via beeld gevende massaspectrometrie (MSI), cardiome-gebaseerde netwerkanalyse en “omics-technieken”. In **hoofdstuk 3** wordt een nieuwe op RNA-Sequencing data gebaseerde netwerkanalyse beschreven die het mogelijk maakt inzicht in de belangrijke globale pathofysiologische processen in HFpEF te krijgen. Hierbij wordt mitochondriële metabolisme als belangrijke proces benadrukt. In **hoofdstuk 4** herkennen wij globale metabolische veranderingen in HFpEF, onder andere lipide metabolisme. Meest opvallend lijkt MetS-geïnduceerd HFpEF geassocieerd te zijn met een verstoorde mitochondrieel oxidatieve stofwisseling met onder andere gereduceerd mitochondrieel fosfolipide cardiolipin en stoornissen in de citroenzuurcyclus en elektronen transportketen.

In **hoofdstuk 5** wordt de invloed van metabole modulatie op de activatie en transdifferentiatie van hart fibroblasten bestudeerd. Wij laten zien dat fibroblast transdifferentiatie gepaard is met een verhoogde glycolyse en stellen vast dat metabole modificaties fibroblast functie en fenotype kunnen beïnvloeden. Verder documenteren wij met MSI dat de acuut en subacuut fases van infarct herstel geassocieerd zijn met duidelijk verschillende metaboliëten patronen in het hart.

De invloed van miR-103/107 inhibitie in het hart wordt in **hoofdstuk 6** beschreven. MiR-103/107 speelt een belangrijke rol in de regulatie van insuline sensitiviteit en glucosemetabolisme. Wij documenteren dat antagomiR-103/107 in muizen het hart metabolisme verandert en tot een verminderde hartfunctie leidt. Verder wordt *in vitro* de

celgrootte, mitochondriële morfologie en functie van hartspiercellen door antagomiR-103/107 beïnvloedt.

Tot slot biedt **hoofdstuk 7** een uitgebreide discussie van de experimentele bevindingen en mogelijkheden voor toekomstig onderzoek.

De uitkomsten van deze thesis bouwen onze kennis over hartfalen verder uit, in het bijzonder de bijdrage van veranderingen in hart metabolisme tijdens de ontwikkeling van hartfalen. Wij laten zien dat mitochondrieel metabolisme een belangrijke rol speelt en verandert in HFpEF. Verder wijzen wij aan dat zowel cellulair metabolisme als ook fenotypische veranderingen als bidirectionele processen kunnen worden gezien die elkaar beïnvloeden. Deze vindingen kunnen als ondersteuning dienen in de ontwikkeling van toekomstige therapeutische strategieën.

Zusammenfassung

Weltweit gibt es mehr als 37 Millionen Menschen, die mit einer Herzinsuffizienz leben. Durch unsere alternde Bevölkerung und einen suboptimalen Lebensstil wird erwartet, dass die Prävalenz von Herzinsuffizienz in Zukunft auch global weiter steigt. Trotz ausgiebiger Forschung, die Beiträge verschiedener Ursachen zur Entwicklung dieser Krankheit zu entziffern, ist unser Verständnis der zu Grunde liegenden Pathophysiologie unvollständig.

Stoffwechselveränderungen im Herzen wurden zwar schon vor einiger Zeit in Betrachtung gezogen, haben aber in den letzten Jahren mehr und mehr an Beachtung gewonnen. Sie werden als immer wichtigere Komponenten in der Pathogenese von kardiovaskulären Krankheiten angesehen, unter anderem auch in der Entwicklung von Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion (auch HFpEF genannt). Da das Herz aus verschiedenen Zelltypen besteht, bleibt es schwierig, deren individuellen Einfluss zu definieren und ebenso passende Therapien zu entwickeln. Dadurch war das Hauptziel dieser Dissertation, Veränderungen im kardiometabolen Stoffwechsel während der Entwicklung von Herzinsuffizienz zu untersuchen und dadurch Wissenslücken zu schließen.

Im Anschluss an die allgemeine Einleitung behandelt **Kapitel 2** die verschiedenen kardialen Stoffwechselrouten über ihre Rolle als Quellen von ATP für die kontinuierliche Kontraktion des Herzens hinaus. Dabei wird der Einfluss von kardiometabolen Veränderungen auf Phänotyp und Funktion der einzelnen Zelltypen des Herzens untersucht und daraufhin diskutiert, inwiefern diese Veränderung zur Herzinsuffizienzentwicklung beitragen könnten.

In den beiden nachfolgenden Kapiteln werden kardiometabole Veränderungen im Herzen mithilfe von bildgebender Massenspektrometrie (MSI), cardiome-basierter und bioinformatischer Netzwerkanalyse, sowie verschiedenen „Omics-Techniken“ erforscht. Die ZSF1-adipöse Ratte dient dabei als ein Modell für HFpEF, hervorgerufen durch das metabolische Syndrom (MetS). In **Kapitel 3** wird eine neuartige Netzwerkanalyse für kardiovaskuläre RNA-Sequenzierungsdaten beschrieben, welche es möglich macht, die wichtigsten pathophysiologischen Prozesse der HFpEF Entwicklung zu begutachten. Hierbei werden vor allem mitochondriale Stoffwechselprozesse als relevant und verändert hervorgehoben. In **Kapitel 4** liegt der Fokus auf der Beobachtung von zentralen Veränderungen im Stoffwechsel der ZSF1-adipösen Ratte, unter anderem im Bereich des Fettstoffwechsels. Besonders bemerkenswert ist es, dass MetS-induzierte HFpEF stark mit dysfunktionalem oxidativem Stoffwechsel in den Mitochondrien verbunden zu sein scheint. Einschließlich fallen die geringere Anwesenheit des Phospholipids Cardiolipin sowie Störungen im Citratzyklus und der Elektronentransportkette auf.

Kapitel 5 beschäftigt sich mit dem Einfluss von Stoffwechselmodifikationen auf die Aktivierung und Transdifferenzierung von kardialen Fibroblasten. Zunächst wird gezeigt, dass Transdifferenzierung von Fibroblasten zum Myofibroblasten mit verstärkter Glykolyse

verbunden ist. Außerdem lässt sich erkennen, dass metabolische Interventionen effektiv in den Phänotyp und die Funktion von Fibroblasten eingreifen und diese anpassen können, beispielsweise in Form von veränderter Zytokinproduktion. Mithilfe von MSI wird die fibroblastreiche Infarktzone in einem Herzinfarkt-Rattenmodell in den akuten und subakuten Infarktphasen untersucht und herausgestellt, dass diese Bereiche in den verschiedenen Infarktphasen distinkte metabolische Profile aufweisen.

Im Rahmen von **Kapitel 6** wird der Einfluss von miRNA-103/107-Inhibition auf das Herz beschrieben. MiRNA-103/107 reguliert Insulinsensitivität und den Stoffwechsel von Glukose. Die Resultate weisen auf, dass die Inhibition von miRNA-103/107 den Stoffwechsel des Herzens nachhaltig beeinflusst und die Herzfunktion von anderweitig gesunden Mäusen reduzieren kann. Auf Zellebene sind die Größe von Herzmuskelzellen sowie deren mitochondriale Morphologie verändert. Außerdem machen *in vitro* Zellexperimente deutlich, dass die Atemkapazität und das Membranpotential von Mitochondrien in Herzmuskelzellen reduziert sind, wenn miRNA-103/107 blockiert wird. Diese Ergebnisse deuten an, dass die Inhibition der miRNA mithilfe von antagomiRs negative Effekte auf den Stoffwechsel und die Funktion des Herzens hat.

Abschließend bietet **Kapitel 7** eine detaillierte Diskussion der experimentellen Erkenntnisse und führt Möglichkeiten zukünftiger Forschung weiter aus.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Erkenntnisse dieser Dissertation unseren aktuellen Wissenstand von der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz erweitern, vor allem im Bereich des Anteils von kardiometabolischen Änderungen während der HFpEF Entwicklung. Dabei wird deutlich, dass der mitochondriale Stoffwechsel in HFpEF stark beeinflusst wird und dass Zellstoffwechsel und phänotypische Umgestaltung als einander modulierende, bidirektionale Prozesse gesehen werden können. Diese Feststellungen können dazu beitragen, zukünftig adäquate therapeutische Strategien zu entwickeln.