

Myocardial infarct healing : rupture and remodeling

Citation for published version (APA):

van den Borne, S. W. M. (2009). *Myocardial infarct healing : rupture and remodeling*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20090417sb>

Document status and date:

Published: 01/01/2009

DOI:

[10.26481/dis.20090417sb](https://doi.org/10.26481/dis.20090417sb)

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

The process of myocardial infarct healing is very complex and can lead to several complications. The present thesis focuses on two common complications of myocardial infarction, associated with the healing process. The first complication is infarct rupture, which occurs in the early phase post-MI, typically between 3-6 days after the infarction. It is a usually lethal complication of acute MI for which no adequate treatment is available. Risk factors for infarct rupture are a transmural infarction, first infarction and a poor collateral circulation. Animal experiments have shown a role for matrix metalloproteinases and cell adhesion proteins in the development of infarct rupture. However, molecular mechanisms involved in infarct rupture in humans have not been described so far. The first hypothesis of this thesis is that cell adhesion molecules, especially α E-catenin, and upregulation of MMP's are involved in the process of infarct rupture in humans.

The second complication related to wound healing post-MI is heart failure, a condition in which the heart is unable to provide sufficient cardiac output to meet the metabolic and oxygen demands of the peripheral tissues. Due to the advances in diagnosis and management of the acute phase of MI, the prevalence of patients with manifest heart failure increases. Most available treatment strategies alleviate the symptoms, but none of the current therapies is able to cure heart failure. Therefore the only rational therapy for heart failure is to prevent its development. This illustrates the utmost importance to develop strategies for early detection of individuals at risk to develop heart failure so that early prevention and treatment may be initiated. This leads to the second hypothesis of this thesis; molecular imaging is a tool to study the process of heart failure and the effects of heart failure treatment post-MI.

In **chapter 2** an overview is given of literature describing the process of myocardial infarct healing with a focus on the role of the myofibroblast. Furthermore, molecular targets in the myofibroblasts amenable to imaging are described as well as experimental studies attempting to image the myofibroblasts.

In **chapter 3** we studied infarct healing post-MI in different mouse strains that are frequently used in cardiovascular research, in order to study the effect of the genetic background on the outcome of these studies. In five different mouse strains (BalbC, C57Bl6, FVB, 129S6 and Swiss) myocardial infarction was induced and infarct healing was studied. Infarct rupture, typically occurring at 3-6 days post-MI, was most frequent in 129S6 mice (62%), followed by C57Bl6 (36%), FVB (29%), Swiss (23%) and BalbC (5%). The high incidence of infarct rupture in 129S6 mice correlated with elevated systolic blood pressure and an increased influx of inflammatory cells at day 3 post-MI. Acute heart failure was

observed in 28% of FVB mice in the first week post-MI, but was rare in other groups. Cardiac dilatation was most marked in Swiss mice with a more than 3-fold increase in end-systolic volume compared to sham, and was least prominent in 129S6 mice. The dilatation correlated with decreased hemodynamic measurements and a decreased ejection fraction. Secondary thinning of the infarct area between day 14 and 28 was significant in BalbC, FVB and Swiss, but absent in C57Bl6 and 129S6. We concluded that the outcome of infarct healing in mice is strongly dependent on genetic background. Therefore, results from studies on pharmacological or genetic interventions in which different mouse strains were used should be compared with caution. The results of the present study allowed us to provide guidelines for the choice of a mouse strain that is most suitable to study a certain aspect of infarct healing.

Since it is known from literature that matrix metalloproteinases (MMP's) play an important role in the development of infarct rupture post-MI in mice, we studied the role of these MMPs in post mortem heart samples of patients who died of infarct rupture post-MI (**chapter 4**). We observed an increased MMP-8 and MMP-9 activity in the infarct area, probably caused by a more prominent infiltration of inflammatory cells in the border zone of the infarct, which is likely to contribute to infarct rupture in humans.

Furthermore, we studied the role of cellular adhesion proteins in post-mortem heart samples of patients who died of infarct rupture post-MI (**chapter 5**). We observed a reduced expression and defective localization of α E-catenin in the intercalated disk region in infarct rupture patients. The mechanism of lower expression of α E-catenin remains to be elucidated. A diminished adhesion of the cardiomyocytes may facilitate the infiltration of inflammatory cells into the infarct area, leading to excessive MMP activity and subsequently to infarct rupture and thus may provide a molecular mechanism for infarct rupture post-MI in humans.

The next two chapters of this thesis focused on molecular imaging of myofibroblasts to visualize cardiac remodeling post-MI. In **chapter 6** we evaluated interstitial alterations in myocardial remodeling using a radiolabeled Cy5.5-RGD imaging peptide (CRIP) that targets the myofibroblasts. Maximum CRIP uptake was observed in the infarct area with the highest uptake at 2 weeks post-MI, followed by 4 and 12 weeks compared to unmanipulated animals. In the remote areas the uptake was not significantly different from control values at 2 and 4 weeks, but the uptake increased significantly at 12 weeks post-MI. The uptake was traced to the myofibroblasts and correlated with the extent of collagen deposition. We conclude that radiolabeled CRIP allows for noninvasive visualization of interstitial alterations during cardiac remodeling.

In **chapter 7** we investigated whether this imaging probe can detect the efficacy of pharmacological intervention after MI. Antagonists of the renin-angiotensin-aldosterone axis restrict myocardial fibrosis and cardiac remodeling post-MI and contribute to improved survival. Since the activating effect of Angiotensin II on myofibroblast proliferation and activity is well established, interference in the RAAS system can be anticipated to affect myofibroblast number and activity. Therefore, evaluation of myofibroblasts should provide indirect evidence of the extent of fibrosis and the efficacy of therapy. We induced MI in mice and treated them with captopril, losartan or spironolactone alone or in combination for 4 weeks post-MI. The CRIP uptake was highest in untreated control animals and decreased significantly in animals treated with one agent. Treatment with two or three agents demonstrated a further reduction in tracer uptake. We concluded that radiolabeled CRIP allows evaluation of the efficacy of neurohumoral antagonists post-MI and reconfirms superiority of combination therapy.

In conclusion, in this thesis alterations in the cadherin/catenin cell adhesion complex and the subsequent excessive inflammatory response are presented as a novel molecular mechanism for infarct rupture post-MI in humans. These observations provide novel insights to develop diagnostic tools for prevention of infarct rupture. Furthermore, the feasibility of myofibroblast imaging as an early marker for heart failure development is demonstrated. If proven clinically, this molecular imaging technique of the myocardial infarct healing process may identify patients at risk for heart failure at an early stage and may help plan an optimal treatment regimen for patients susceptible for heart failure.

SAMENVATTING

Het proces van wondgenezing na een myocard infarct (MI) is erg complex en kan leiden tot diverse complicaties. In dit proefschrift richten we ons op twee veelvoorkomende complicaties na myocard infarct die geassocieerd zijn met het wondgenezingsproces. De eerste complicatie is infarctruptuur, een complicatie die optreedt in de eerste fase na MI, meestal binnen 3-6 dagen na het infarct. Aangezien er geen adequate behandeling mogelijk is, sterven de meeste patiënten aan een infarctruptuur. Infarctruptuur is geassocieerd met een transmuraal infarct, een eerste episode van een myocard infarct en een slechte collaterale circulatie. Dierexperimenten hebben een rol voor matrix metalloproteinases (MMP's) en celadhesie eiwitten aangetoond in de ontwikkeling van infarctruptuur. Echter, er zijn geen moleculaire mechanismen beschreven die de ontwikkeling van infarctruptuur in mensen verklaren. De eerste hypothese van dit proefschrift is dat in de humane situatie celadhesie moleculen, met name α E-catenin, en een opregulatie van MMP's betrokken zijn bij het proces van infarctruptuur.

Een tweede complicatie die gerelateerd is aan wondgenezing na een myocard infarct is hartfalen. Dit is een conditie waarbij het hart onvoldoende output kan leveren om aan de metabole en zuurstof behoefte van de perifere weefsels te voldoen. Door de vermindering van de acute sterfte na een myocard infarct is het aantal patiënten dat een infarct overleeft, en daardoor kans heeft om hartfalen te ontwikkelen, gestegen. De beschikbare behandelingen verlichten de symptomen van hartfalen, maar kunnen hartfalen niet genezen. Het is uitermate belangrijk om nieuwe technieken te ontwikkelen zodat patiënten met een risico op hartfalen in een vroeg stadium kunnen worden opgespoord, nog voordat de patiënt klachten heeft. Hierdoor kan de behandeling in een heel vroeg stadium worden gestart en kan de ontwikkeling van de symptomen van hartfalen worden tegengegaan. Dit leidt tot de tweede hypothese van dit proefschrift; moleculaire beeldvorming is een techniek om het proces van hartfalen te bestuderen en kan tevens de effecten van de behandeling van hartfalen in kaart brengen.

In **hoofdstuk 2** wordt een literatuuroverzicht gegeven van het proces van wondgenezing na myocardinfarct met een focus op de myofibroblasten. Verder worden moleculaire targets beschreven die gebruikt zouden kunnen worden voor imaging en wordt een overzicht gegeven van experimentele studies waarin is getracht om myofibroblasten te imagen.

In **hoofdstuk 3** hebben we infarctgenezing na MI bestudeerd in verschillende muizenstammen die veelvuldig in cardiovasculair onderzoek worden gebruikt. Het doel was de effecten van de genetische achtergrond op de resultaten van deze studies te bestuderen. Vijf verschillende muizen stammen (BalbC, C57Bl6, FVB, 129S6 and Swiss) werden geïncubeerd, MI werd geïnduceerd en infarct

genezing werd bestudeerd. Infarctruptuur werd waargenomen tussen 3-6 dagen na MI en trad het meest frequent op in 129S6 muizen (62%), gevolgd door C57Bl6 (36%), FVB (29%), Swiss (23%) en BalbC (5%). De hoge incidentie van infarctruptuur in de 129S6 muizen was geassocieerd met een hoge systole bloeddruk en een grotere influx van ontstekingscellen op dag 3 na MI. Acut hartfalen werd gezien in 28% van de FVB muizen in de eerste week na MI, maar kwam zelden voor in de andere groepen. Cardiale dilatatie was het meest uitgesproken in Swiss muizen, met een meer dan 3-voudige stijging in het eind systole volume in vergelijking met sham geopereerde muizen. De dilatatie correleerde met een verminderde contractie en relaxatie van het hart en een lagere ejectiefraction. Cardiale dilatatie kwam het minste voor in 129S6 muizen. Secundaire dilatatie van het infarct tussen dag 14 en 28 na MI trad op in BalbC, FVB en Swiss muizen, maar was afwezig in C57Bl6 en 129S6. Uit de bevindingen in hoofdstuk 3 concluderen we dat de infarct heling na MI in muizen sterk afhankelijk is van hun genetische achtergrond. Voorzichtigheid is geboden bij het vergelijken van resultaten die zijn verkregen in verschillende muizenstammen. Verder bieden de uitkomsten een richtlijn voor het kiezen van een geschikte muizenstam om bepaalde aspecten van cardiale remodelering na MI te bestuderen.

Uit de literatuur is bekend dat in experimentele muismodellen matrix metalloproteinasen (MMP's) een belangrijke rol spelen in de ontwikkeling van infarctruptuur na MI. In **hoofdstuk 4** bestudeerden we de rol van deze MMP's in post-mortem hartweefsel van patiënten die waren overleden aan een infarctruptuur. De resultaten van deze studie laten zien dat een verhoogde activiteit van MMP-8 en MMP-9 in het infarctgebied, veroorzaakt door een grotere influx van ontstekingscellen, leidt tot infarctruptuur in mensen.

In **hoofdstuk 5** bestudeerden we de rol van cel adhesie eiwitten in post-mortem hart weefsel van patiënten die waren overleden aan infarct ruptuur na MI. De resultaten lieten een verminderde expressie zien van α E-catenine in patiënten overleden aan infarctruptuur. Tevens bleek dat bij deze patiënten minder α E-catenin in de intercalairschijven aanwezig was en dat dit eiwit dus niet goed gelokaliseerd is in de hartspiercel. Alhoewel het precieze mechanisme dat leidt tot een lagere expressie van α E-catenin nog verder onderzocht moet worden, is op basis van de resultaten uit hoofdstuk 4 en 5 een mogelijk mechanisme beschreven dat kan leiden tot infarctruptuur na MI in mensen, en dat als startpunt kan dienen voor de ontwikkeling van (preventieve) geneesmiddelen.

Hoofdstukken 6 en 7 van dit proefschrift richten zich op moleculaire imaging van myofibroblasten om zodoende de cardiale remodelering na MI in beeld te brengen. In **hoofdstuk 6** hebben we gekeken naar interstitiële veranderingen tijdens remodelering van het myocard. Hiervoor hebben we gebruik gemaakt van een radioactief gelabeld Cy5.5-RGD imaging peptide (CRIP) dat aan my-

ofibroblasten bindt. Maximale CRIP opname werd gezien in het infarct gebied met de hoogste opname 2 weken na MI, gevolgd door 4 en 12 weken na MI in vergelijking tot dieren zonder MI. De CRIP opname in het niet-geïnfarceerde restmyocard verschilde niet van controle waarden 2 en 4 weken na infarct maar was verhoogd op 12 weken na MI. De CRIP opname was gerelateerd aan het aantal myofibroblasten en correleerde met de hoeveelheid collagen depositie. Concluderend laat deze studie zien dat radioactief gelabeld CRIP interstitiële veranderingen gedurende cardiale remodelering op een niet-invasieve manier in kaart kan brengen.

In **hoofdstuk 7** hebben we gekeken of deze imaging probe de effecten van farmacologische interventies na MI kan detecteren. Antagonisten van de renine-angiotensine-aldosteron-as kunnen myocardiale fibrose en cardiale remodelering verminderen en leiden tot een verbeterde overleving. Aangezien myofibroblasten AT1 receptoren tot expressie brengen is het waarschijnlijk dat beïnvloeding van het RAAS system een effect heeft op de myofibroblasten. Imaging van myofibroblasten zou indirect de hoeveelheid fibrose moeten weergeven. Direct na infarcering werden de muizen 4 weken behandeld met captopril, losartan of spironolactone alleen of in combinatie. De CRIP opname was het hoogste in onbehandelde controle dieren en verminderde significant in de dieren die met monotherapie waren behandeld. Behandeling met twee of drie medicijnen liet een verdere reductie in probe opname zien. Concluderend liet deze studie zien dat radioactief gelabeld CRIP de mogelijkheid biedt om de effecten van farmacologische interventie te evalueren. Verder bevestigde deze studie de superioriteit van combinatie therapie in de behandeling van hartfalen.

Concluderend beschrijft dit proefschrift twee belangrijke complicaties van wondgenezing na een myocardinfarct. Enerzijds wordt een nieuw moleculair mechanisme beschreven voor infarctruptuur na MI in mensen. Anderzijds laat het een mogelijkheid zien om myofibroblasten te imagen als een vroege marker voor hartfalen. Als deze techniek klinisch wordt bewezen, zouden patiënten met een risico op hartfalen in een vroeg stadium kunnen worden gedetecteerd en kan een optimaal behandelplan voor deze patiënten worden opgesteld, om zodoende het ontstaan van hartfalen te voorkomen.

