



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Enhancing epicardial EMT to repair the heart

Dronkers, E.

Citation

Dronkers, E. (2023, February 2). *Enhancing epicardial EMT to repair the heart*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3514309>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3514309>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Elk jaar worden in Nederland 34.000 patiënten opgenomen in het ziekenhuis vanwege een myocardinfarct. Bij dit infarct sterven duizenden cellen af als gevolg van een verstopping in één van de kransslagaders waardoor een deel van de hartspier geen zuurstof en voedingsstoffen ontvangt. Omdat hartweefsel slecht in staat is zichzelf te herstellen, wordt dit dode weefsel vervangen door littekens, die het hart belemmeren voldoende bloed rond te pompen. Patiënten kunnen daardoor na een myocardinfarct een verslechterde hartfunctie krijgen, wat leidt tot hartfalen. Op dit moment zijn er weinig therapieën beschikbaar die beschadigd hartweefsel herstellen en daarmee hartfalen kunnen voorkomen.

Door beschadigd hartweefsel te regenereren kan hartfalen tegengegaan worden. Voor dit proces van regenereren is het nodig om de spiercellen, de cardiomyocyten, te laten vermenigvuldigen en de doorbloeding te herstellen. Het ontwikkelende hart is een blauwdruk van een optimale werking van deze processen; de embryonale en foetale ontwikkeling tonen in optima forma hoe hartweefsel gevormd kan worden.

Een belangrijke bijdrage aan hartontwikkeling wordt geleverd door het epicard, een vlies dat het hart omgeeft. Het epicard stimuleert en reguleert de vorming van nieuw hartweefsel door middel van de afgifte van cellen en biochemische signalen. De epicardiale epitheliale-naar-mesenchymale transitie (epiMT) staat hierin centraal. Een epitheliale cel wordt gekenmerkt door een ronde vorm en de expressie van eiwitten die de cellen met elkaar verbinden waardoor ze een stevige buitenste laag van het hart vormen. Een mesenchymale cel daarentegen is langwerpiger en beweeglijker en kan daardoor het weefsel migreren. EpiMT is het proces waarin een epitheliale cel in het epicard verandert in een mesenchymale cel, een zogenoemde "epicardial derived cell (EPDC)". Doordat cellen epiMT ondergaan kunnen de gevormde mesenchymale

cellen het hartweefsel in migreren en daar bijdragen aan de vorming van bloedvaten en bindweefselcellen (fibroblasten). Daarnaast scheiden deze cellen stoffen af die de groei van hartweefsel en deling van cardiomyocyten stimuleren. Dit proces van epiMT is daarmee essentieel voor de bijdrage van het epicard aan de ontwikkeling van het hart.

Als de ontwikkeling van het hart is voltooid worden de epicard cellen inactief. Bij beschadiging van het hart worden de epicardcellen echter weer actief en zijn er cellen die epiMT ondergaan. Maar vergeleken met het foetale hart is dit proces suboptimaal: cellen ondergaan minder snel epiMT en er wordt minder migratie van EPDCs in het hartweefsel waargenomen. Studies hebben laten zien dat het optimaliseren van epiMT is gecorreleerd aan een verbeterde hartfunctie. Het doel van dit proefschrift is daarom om factoren te identificeren die epiMT kunnen stimuleren in het volwassen hart, met als uiteindelijke doel om hartweefsel te herstellen na een myocardinfarct (**Hoofdstuk 1**).

Hoofdstuk 2 beschrijft de literatuur die bekend is over de bijdrage van het epicard aan hartontwikkeling en het beschadigde hart. Ook wordt beschreven welke modellen beschikbaar zijn om dit te onderzoeken.

Om de regulatie van epiMT goed te kunnen bestuderen hebben wij een celkweekmodel ontwikkeld, zoals beschreven in **hoofdstuk 3**. Hiervoor worden primaire epicardiale cellen geïsoleerd van humaan foetaal en adult hartweefsel en vervolgens in kweek gebracht. Deze cellen hebben een epitheliaal fenotype. Toevoeging van het signaalmolecuul TGF β induceert epiMT in deze cellen. Opvallend is dat foetale cellen ook zonder toevoeging van TGF β spontaan epiMT kunnen ondergaan, terwijl adulte cellen dit niet kunnen.

Adult epicardiale cellen kunnen daarom goed gebruikt worden voor het identificeren van nieuwe activatoren van epiMT. In **hoofdstuk 4** wordt een screening uitgevoerd met ruim 1.200 moleculen waarin wordt onderzocht of een van deze stoffen epiMT induceert in de cellen. We identificeren twee nieuwe epiMT-activatoren: Oltipraz metabolite M2 (M2) en TBBz. Vervolgens onderzoeken we welk signaleringspad deze stoffen aanzetten. Bij behandeling met TBBz zien we een sterk effect op epigenetica, specifiek op H3K27 methylering. Dit kan mogelijk de route zijn die epiMT drijft.

De TGF β en bijbehorende BMP signaleringspaden zijn essentieel in epiMT tijdens de ontwikkeling van het hart. Daarom wordt in **hoofdstuk 5** beschreven wat hierover

reeds bekend is en welke lessen er geleerd kunnen worden om epiMT in het volwassen hart beter te begrijpen. Hieruit blijkt dat er veel bewijs is voor de rol van TGF β in epiMT, maar dat er minder bekend is over de rol van TGF β -gerelateerde paden zoals BMP en Activine.

Daarom wordt in **hoofdstuk 6** een vergelijking gemaakt tussen deze paden waarin het epicardiale celweekmodel wordt ingezet. De adulte cellen worden gebruikt om te kijken of stoffen als BMPs en Activine epiMT kunnen induceren in epicardiale cellen. Terwijl de foetale cellen worden ingezet om te kijken of spontane epiMT voorkomen kan worden door remmers van o.a. BMP en Activine. Hieruit concluderen we dat het Activine pad, via de receptor ALK4, betrokken is bij epiMT.

In **hoofdstuk 7** wordt gekeken naar de rol van PRRX1 in het epicard. Dit eiwit is belangrijk voor compleet herstel van beschadigd hartweefsel in zebravissen en komt met name tot expressie in het epicard. Daarom beschrijven we de rol van PRRX1 in humane epicardcellen. Hieruit blijkt dat PRRX1 essentieel is voor de expressie van NRG-1, een eiwit dat wordt uitgescheiden door mesenchymale epicardcellen, en cardiomyocyten aanzet om te vermenigvuldigen. We zien hoge PRRX1 expressie in het zebravis hart en in foetale humane epicardcellen, maar het is vrijwel afwezig in het humane geïnfarceerde hart.

Na de identificatie van epiMT inducerende factoren, TBBz, M2 en Activin/ALK4, is de volgende stap om het beschadigde hart te behandelen. Hiervoor is het nodig om hartweefsel voor langere tijd bloot te stellen aan de deze factoren. Daarom worden in **hoofdstuk 8** twee epicardiale, zelfklevende patches beschreven waarin factoren gemengd kunnen worden en die toegediend kunnen worden op het hart.

In **hoofdstuk 9** worden de gevonden resultaten bediscussieerd.