

VU Research Portal

Modulators of proteostasis: therapeutic targets and diagnostic markers to halt and reverse atrial fibrillation

Marion, D.M.S.

2021

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Marion, D. M. S. (2021). *Modulators of proteostasis: therapeutic targets and diagnostic markers to halt and reverse atrial fibrillation: Modulating proteostasis to halt and reverse AF*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

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

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Nederlandse samenvatting

Boezemfibrilleren of atrium fibrilleren (AF) is de meest voorkomende leeftijdsgebonden hartritmestoornis en vertegenwoordigt een derde van de ziekenhuisopnames voor hartritmestoornissen. De progressieve aard van AF ligt geworteld in de voortdurende structurele schade in de atriale cardiomyocyten, die al aanwezig is wanneer AF wordt gediagnosticeerd. Ondanks de huidige inspanningen om de “elektrische symptomen” van AF te verlichten met de huidige behandelingsstrategieën, wordt de elektrische geleiding en de excitatie-naar-contractie koppeling gedwarsboomd door de structurele schade, die in atriale cardiomyocyten aanwezig is. Bovendien ligt de structurele schade in de cardiomyocyten ten grondslag aan het hoge recidiefpercentage na AF-behandeling en maakt deze schade het terugkrijgen van het sinusritme, in de gevorderde stadia van AF, bijna onmogelijk. Het is duidelijk dat er dringend behoefte is aan verbetering van AF-therapieën, die tot doel hebben de structurele schade bij AF-patiënten te stoppen (halt) en zelfs om te keren (reverse). Een mogelijke behandelingsoptie bij AF is het induceren (verhogen) van cardio-beschermende heat shock eiwitten (HSP's). Omdat eerder was gezien dat overexpressie van HSP's RhoA-geïnduceerde actine-stressbundelvorming in HL-1 atriale cardiomyocyten kon verminderen, hebben we getest of RhoA de HSP-expressie beïnvloedt. Pathologische RhoA-activering bleek de cardio-beschermende heat shock response (HSR) in HL-1 atriale cardiomyocyten te onderdrukken door de binding van heat shock factor -1 (HSF1) aan het heat shock element in het promotor-gedeelte van *hsp*-genen te verminderen. Andersom, werd de HSR versterkt na genetische remming van RhoA, wat erop wijst dat de RhoA-route HSP-expressie reguleert.

Verder hebben we meerdere geranylgeranylaceton (GGA) -derivaten geïdentificeerd, in het bijzonder GGA*-59, met verbeterde fysisch-chemische profielen en HSP-boostende capaciteiten in vergelijking met het moeder-molecuul GGA. Belangrijk is dat deze GGA-derivaten cardio-beschermende effecten hadden en versneld herstel van contractiele disfunctie bij experimentele AF bewerkstelligden. HSP-boosting door behandeling met GGA*-59 en recombinant HSPB1 na tachypacing (electrische stimulatie

met hoge frequentie om AF na te bootsen) bleek ook het herstel van de door tachypacing geïnduceerde structurele schade te versnellen. GGA*-59 verhoogde HSPB1-niveaus, onderdrukte HDAC6-activiteit en herstelde contractiele eiwit- en microtubuli-niveaus na tachypacing, wat erop wijst dat HSP-inductie een interessant doelwit kan zijn om het herstel van AF-geïnduceerde schade te versnellen.

Vervolgens werd proof of concept verkregen door HSP-niveaus in het menselijk hart te induceren met GGA-behandeling. Drie dagen orale GGA-behandeling was geassocieerd met hogere HSPB1- en HSPA1-expressieniveaus in rechter en linker hartoren (respectievelijk RAA en LAA) van patiënten die een coronaire bypassoperatie (CABG) hebben ondergaan. Bovendien hadden met GGA behandelde patiënten meer HSPB1 aanwezig bij de myofilamenten in vergelijking met niet-behandelde patiënten. Deze bevindingen effenen de weg voor verder onderzoek naar de rol van GGA en/of GGA-derivaten als beschermend middel bij experimentele en klinische (post-operatieve) AF.

Omdat het nog steeds onduidelijk is of HSP-niveaus het stadium van AF en recidief na AF-behandeling kunnen voorspellen, hebben we geprobeerd de correlatie tussen serum- en weefsel-HSP-niveaus en AF bij patiënten op te helderen. Serum HSPB1, HSPA1, HSPB7 en HSPD1 spiegels correleerden niet met de aanwezigheid van AF in vergelijking met controle, AF-stadium of AF-recidief bij patiënten die elektrische cardioversie (ECV) of pulmonale aderisolatie (PVI) ondergingen. HSPB1-spiegels waren echter verhoogd in serummonsters van patiënten met een AF-recidief binnen één jaar na PVI, wat suggereert dat HSPB1-spiegels een AF-recidief na PVI kunnen voorspellen. Vergelijkbare resultaten werden verkregen voor patiënten die een openhartoperatie ondergingen: noch baseline noch follow-up serum HSP-spiegels correleerden met de aanwezigheid van AF in vergelijking met controle, AF-stadium, ontwikkeling van post-operatieve AF (PoAF) of AF-recidief. Atriumweefsel (RAA en LAA) niveaus van HSPB1, HSPA1, HSPB5 en pHSF1 waren vergelijkbaar tussen controle en paroxysmaal (PAF), persistent (PeAF) en langdurend persistent (LSPeAF) AF, terwijl RAA HSPA5-niveaus significant lager waren in LSPeAF- en HSPD1-niveaus hoger in PeAF en in de totale AF-groep vergeleken met controle. Zowel HSPA1- als HSPA5-RAA-niveaus waren hoger bij controlepatiënten, die PoAF

ontwikkelden, vergeleken met patiënten die geen PoAF ontwikkelden. Interessant is dat HSPB1 RAA-niveaus significant lager waren en HSPA5 LAA-niveaus hoger bij patiënten met AF-recidief na Maze-chirurgie, bovenop de behandeling van hun onderliggende hartziekte, in vergelijking met geen AF-recidief.

Naast de betrokkenheid van de RhoA-route en de heat shock response bij (experimenteel) AF, werd mitochondriale disfunctie waargenomen in ge-tachypacete HL-1 atriale cardiomyocyten, zoals bleek uit de verhoogde transcriptie van de mitochondriale stresschaperones HSPD1 en HSPE1, fragmentatie van het mitochondriale netwerk en vermindering van cellulaire ATP-niveaus, mitochondriaal membraanpotentieel, mitochondriale calciumtransiënten en maximale ademhalingscapaciteit. RAA's en LAA's van AF-patiënten vertoonden ook mitochondriale disfunctie, wat bleek uit afwijkende ATP-niveaus, verhoogde HSPD1-niveaus en fragmentatie van het mitochondriale netwerk. Tachypacing-geïnduceerd verlies van mitochondriale calcium transiënten in HL-1 cardiomyocyten en verminderde samentrekkingen van de hartwand in *Drosophilas* werden voorkomen door de mitochondriale Ca^{2+} uniporter-remmer Ru360. Bovendien normaliseerde Ru360-behandeling de cellulaire ATP-niveaus en beschermde de behandeling met Ru360 het mitochondriale netwerk tegen tachypacing-geïnduceerde fragmentatie. Ru360-behandeling kon echter niet de transcriptieniveaus van HSPD1 en HSPE1 in HL-1-hartspiercellen laten normaliseren. Deze bevindingen geven een indicatie dat AF geassocieerd is met mitochondriale disfunctie en dat moleculaire verbindingen die gericht zijn op het behoud van mitochondriale Ca^{2+} -functionaliteit beschermend zijn.

Ook toonden we aan dat serum spiegels van cfc-mtDNA geassocieerd zijn met het AF-stadium, vooral bij mannelijke paroxysmale AF-patiënten en patiënten met een AF-recidief na PVI-behandeling. Bovendien waren verhoogde cfc-mtDNA spiegels in het groeimedium van *in vitro* ge-tachypacete HL-1-hartspiercellen geassocieerd met verhoogde mitochondriale schade en stress in deze hartspiercellen. AF kan dus de afgifte van mtDNA uit atriale cardiomyocyten in de bloedsomloop veroorzaken. Toekomstig onderzoek zou moeten vaststellen of cfc-mtDNA geschikt is als biomarker voor AF.