

VU Research Portal

Nemaline myopathy: pathophysiology and therapeutic targets

de Winter, J.M.

2017

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

de Winter, J. M. (2017). *Nemaline myopathy: pathophysiology and therapeutic targets*.

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

SAMENVATTING

SAMENVATTING

Nemaline myopathie is een ernstige spierziekte waarvoor momenteel nog geen therapie bestaat. Dit komt onder andere omdat de oorzaak van spierzwakte bij patiënten met nemaline myopathie niet volledig bekend is. Daarom was het doel van dit proefschrift om meer inzicht te krijgen in ziekteprocessen die leiden tot spierzwakte in nemaline myopathie. Daarnaast hebben we onderzocht of er een verband is tussen de verschillende genetische oorzaken van nemaline myopathie en het type spierzwakte op spiercelniveau. Hoofdstuk 2 – 5 beschijft studies die antwoord proberen te vinden op deze vragen. Met het vergrote inzicht naar mechanismen van het ziekteproces hebben we vervolgens nieuwe therapeutische benaderingen getest om kracht in spiercellen te vergroten. De uitkomsten van deze studies staan beschreven in hoofdstuk 6 – 8.

Achtergrond

De naam nemaline myopathie is gegeven door de arts die voor het eerst zogenaamde ‘nemaline bodies’ ontdekte op spierfoto’s van patiënten met spierzwakte. Deze nemaline bodies zijn donkere structuren die je kunt zien als je heel ver inzoomt op de spier. Als je goed inzoomt op deze bodies, zie je dat ze uit draadachtige structuren bestaan. De arts die dit ontdekte gaf de bodies de naam ‘nemaline bodies’, naar het Griekse woord ‘nèma’, dat ‘draad’ betekent. Normaal gesproken horen deze bodies niet voor te komen in spieren. Het klinisch beeld bij patiënten met nemaline myopathie varieert sterk: van vroegtijdige dood tot milde spierzwakte met een normale levensduur.

Toen in 1995 het eerste gen werd ontdekt dat betrokken is bij nemaline myopathie, ging het snel met de zoektocht naar oorzaken van deze spierziekte. Op moment van schrijven tellen we 11 genen die – indiid gemuteerd (dus als er een foutje zit in je genetische code) – kunnen resulteren in nemaline myopathie. Deze eiwitten coderen allemaal voor bouwstenen van de sarcomeer, de kleinste contractiele eenheid van een spier; ookwel de kleine motoren die ervoor zorgen dat de spier kan samentrekken. Deze sarcomeer bestaat uit een raderwerk van kleine eiwitten die de motor soepel laten draaien. Als een van die raderen hapert, dan loopt de machine niet optimaal, en dat is in het geval van nemaline myopathie de reden waarom de spieren niet de gewenste kracht kunnen leveren. Elke radertje heeft

weer een andere taak om de machine goed te laten lopen. Zo'n rader wordt ookwel een eiwit genoemd. Zo'n eiwit wordt door het lichaam gemaakt door het recept voor het eiwit af te lezen van de genen in je dna. In dit proefschrift hebben we onderzocht wat het effect is van foutjes in die verschillende genen – die dus coderen voor eiwitten – op de krachtsgeneratie van spiercellen. Ook hebben we getest of medicijnen die aangrijpen op een belangrijk onderdeel van het raderwerk, de spierkracht in spiercellen van patiënten met nemaline myopathie kan vergroten. Hieronder worden kort per hoofdstuk de bevindingen samengevat.

Oorzaken van spierzwakte in nemaline myopathie

Hoofdstuk 2

Nemaline myopathie is een spierziekte waarbij het dunne filament in de skeletspier is aangedaan. Het dunne filament en het dikke filament zijn beide belangrijke onderdelen van de sarcomeer, de motor van de spier. De overlap tussen het dunne en dikke filament in de spier bepaalt hoeveel dikke-dunne filament interacties gevormd kunnen worden, deze interacties worden ookwel 'cross-bridges' genoemd. Bij het vormen van een cross-bridge gaat het raderwerk in de sarcomeer draaien, en kan de spier kracht leveren. De lengte van de filamenten is dus belangrijk voor de hoeveelheid cross-bridges die gevormd kunnen worden, en dus bepalend voor de hoeveelheid kracht die geleverd kan worden. In 51 biopten van patiënten met nemaline myopathie hebben we bestudeerd of de kracht die de spiercellen leveren beïnvloed wordt door veranderingen in de lengte van het dunne filament. De 51 biopten bevatten mutaties in 8 van de 11 genen die kunnen leiden tot nemaline myopathie. Van deze studie hebben we geleerd dat alle bestudeerde mutaties leiden tot spierzwakte op spiercelniveau, en dat de invloed van kortere dunne filamenten op spiercelzwakte specifiek is voor mutaties in *ACTA1* en *NEB*. Een andere interessante bevinding is dat een nemaline-deficiënt muismodel voor nemaline myopathie laat zien dat skeletspieren kunnen compenseren voor de korte dunne filamenten door meer sarcomeren in serie toe te voegen. Hierdoor kunnen de sarcomeren op een kortere lengte samentrekken, een lengte die dicht bij hun optimale lengte ligt. We weten nog niet of dit compensatoire controlemechanisme ook in patiënten aanwezig is, maar voor toekomstige studies is het interessant om te onderzoeken of het stimuleren van de aanmaak van sarcomeren in serie spierzwakte kan tegengaan.

Hoofdstuk 3

In hoofdstuk 3 hebben we onderzocht of er een verband is tussen de organisatie van sarcomeren, de krachtgeneratie op spiercelniveau en het klinisch beeld van nemaline myopathie-patiënten met mutaties in het nebuline gen. Het onderzoek liet zien dat het klinische beeld samenhangt met de krachtgeneratie op spiercelniveau en de organisatie van de sarcomeren. Met deze organisatie wordt de aaneenschakeling van myofibrillen bedoeld. Als nemaline bodies zich aan de rand van de spiervezel bevinden, dan kan de spiercel nog goed presteren en dit wordt ook teruggezien in het klinisch beeld. Echter, als nemaline bodies verspreid zijn over de gehele spiervezel en daardoor de organisatie van myofibrillen ernstig verstoord wordt, kan de spiervezel weinig kracht leveren, en vertoont de patiënt ook ernstige spierzwakte.

Hoofdstuk 4

In hoofdstuk 4 hebben het effect van de aanwezigheid van slechts één nebuline allel (in plaats van twee) bestudeerd op de mate van expressie van sarcomeergenen, de hoeveel sarcomeereiwwitten en de krachtgeneratie in spieren. Deze studie liet zien dat spieren van muizen met één nebuline allel normale hoeveelheden nebuline bezitten. Wél zijn de mRNA-niveaus van genen die coderen voor sarcomeereiwwitten flink verhoogd voor troponine C, T en I en myosine van langzame spiervezels. Naast de mRNA-niveaus is ook de hoeveelheid eiwit langzaam myosine verhoogd. Krachtmetingen aan geïsoleerde spieren toonden milde spierzwakte in muizen met slechts één nebuline allel. Dus afwezigheid van één nebulin allel heeft geen invloed op de hoeveelheid nebuline eiwit, maar draagt wel bij aan een verhoogd niveau van langzaam troponine en myosine en milde spierzwakte.

Hoofdstuk 5

Tijdens mijn promotietraject werd er een nieuw gen ontdekt dat betrokken is bij het ontstaan van nemaline myopathie. De naam van het gen is *KBTD13*, en patiënten met mutaties in dit gen hebben nemaline type 6, ookwel NEM6 genoemd. Kenmerken van deze groep patiënten is dat ze naast spierzwakte ook spiertraagheid vertonen. We ontdekten dat spiervezels van NEM6-patiënten zwakte vertonen op sarcomeerniveau. Ook hebben we een muis gemaakt die door een genetische fout geen *Kbtbd13* kan aanmaken

in de spieren. Krachtmetingen in spieren van deze muis laten zien dat de spieren zwak zijn, en ook traag. Het *KBTBD13* gen is naast skeletspieren, ook aanwezig in de hartspier. Het effect van mutaties in *KBTBD13* op hartspierfunctie is nog onbekend. Studies op het *Kbtbd13*-deficiënte muismodel laten zien dat deze muizen een lagere contractiele reserve hebben bij stress-condities. Momenteel worden NEM6 patiënten gescreend op hartfunctie, zodat we het effect van *KBTBD13* mutaties op het hart goed kunnen bestuderen, en adviezen aan de patiënten kunnen uitbrengen.

Therapeutische benaderingen in nemaline myopathie

Hoofdstuk 6 – 8

In hoofdstuk 6 – 8 hebben we de potentie van verschillende medicijnen getest om spierkracht te verhogen in spiercellen van patiënten met nemaline myopathie. We hebben specifiek gekeken naar de groep nemaline myopathie-patiënten met mutaties in het nebuline gen, dit is het meest voorkomende type nemaline myopathie. De medicijnen die we hebben getest verhogen de gevoeligheid voor calcium in de spiercellen. Spieren hebben calcium nodig om samen te trekken, en door de gevoeligheid voor calcium te vergoten, verwachten we dat bij een gelijke hoeveelheid beschikbaar calcium in de spier, de spierkracht omhoog gaat. Allereerst hebben we het effect van Levosimendan getest op spierfunctie. Levosimendan is een troponine activator die specifiek aangrijpt op de langzame spiercellen. We zagen geen toename in spierkracht bij de aanwezigheid van Levosimendan in zowel langzame spiercellen van nemaline myopathie-patiënten als in gezonde controles. Een tweede troponine activator die we hebben getest – CK-2066260 - grijpt specifiek aan op snelle spiervezels. In zowel spiercellen van nebuline-deficiënte muizen, als in spiercellen van patiënten met nemaline myopathie door mutaties in nebuline verhoogt de snelle troponine activator spierkracht bij submaximale inspanningen. Dit kan juist van klinische relevantie zijn, want dit betreft het inspanningsniveau van dagelijkse activiteiten als admehalen en lopen. Juist op deze inspanningsniveaus kan de troponine activator spierkracht vergroten. Tot dusver hebben we dit alleen op geïsoleerde spiercellen in het lab kunnen aantonen, maar de resultaten moedigen aan om verder uit te zoeken of dit medicijn ook daadwerkelijk spierkracht in nemaline myopathie-patiënten vergroot.

Samengevat, de focus van dit proefschrift was om te begrijpen waarom patiënten met nemaline myopathie spierzwakte hebben, en hoe we spierkracht kunnen verhogen. Door het verzamelen van een grote collectie spiermateriaal van nemaline myopathie-patiënten en het maken van diverse nemaline myopathie muismodellen hebben we toegang tot uniek weefsel om toegepaste studies uit te voeren. Oorzaken van spierzwakte bij nemaline myopathie-patiënten zijn veranderingen in (1) de lengte van het dunne filament, (2) de gevoeligheid van de spier voor calcium, (3) de snelheid waarmee cross-bridges worden gevormd, (4) de locatie van nemaline bodies in de spier en (5) de samenstelling van eiwitten die zorgen voor het samentrekken van de spier. De bijdrage van deze veranderingen aan spierzwakte bij nemaline myopathie bleek afhankelijk te zijn van de specifieke mutatie van de patiënt. Een veelbelovende invalshoek voor een toekomstige therapie is het verhogen van de gevoeligheid voor calcium in spieren van patiënten met nemaline myopathie.

