

# **Chapter 10**

**Nederlandse Samenvatting**

**List of Publications**

**Dankwoord**

**Curriculum Vitae**



## Nederlandse Samenvatting en Conclusies

### Familiaire hypertrofische cardiomyopathie: een energiek verhaal over cellulaire remodelering en sarcomeer functie

Familiaire hypertrofische cardiomyopathie (HCM) is een genetische cardiovasculaire ziekte die in ongeveer 0,2% van de samenleving voorkomt. De belangrijkste structurele eigenschap (fenotype) is de asymmetrische verdikking (hypertrofie) van het linker ventrikel van het hart. Structurele veranderingen zijn ook zichtbaar op cellulair niveau door misoriëntatie van de hartspiercellen. Er zijn meer dan 1300 HCM geassocieerde DNA mutaties (genotype) gevonden in genen die coderen voor sarcomeereiwitten. Hoe deze mutaties, die veelal leiden tot stoornissen in sarcomeerfunctie, zich verhouden tot structurele veranderingen van het hart is onduidelijk. Het doel van dit proefschrift is dan ook om meer inzicht te verkrijgen in deze complexe relatie tussen het genotype en fenotype in humane HCM. Onderscheid is gemaakt tussen cellulaire structurele veranderingen (remodelering) en intrinsieke HCM mutatie effecten op sarcomeerfunctie. *In vitro* studies in humaan hartspier weefsel zijn gecombineerd met *in vivo* studies naar het functioneren van het menselijk hart. Hierdoor kan worden bekeken of de cellulaire structurele en contractiele veranderingen ook relevant zijn voor de globale hartspierfunctie.

### Mutatie versus cellulaire remodelering

Remodelering van de hartspiercellen zou een belangrijke oorzaak kunnen zijn voor de afname in hartspierfunctie. Hoofdstuk 2 beschrijft de verschillen in functie en remodelering op cellulair niveau van HCM patiënten met de R723G mutatie in het gen dat codeert voor het sarcomeereiwit myosine zware keten (*MYH7*) in vergelijking met gezonde hartspiercellen (controlegroep). De maximale kracht die een hartspiercel kan opwekken en de gevoeligheid voor calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) was lager in R723G hartspiercellen. Hoewel dit laatste werd gecompenseerd door een afname in fosforylering van de contractiele eiwitten bleek de afname in maximale kracht veroorzaakt te worden door een lagere dichtheid en misoriëntatie van de myofibrillen in R723G hartspiercellen.

Naast een directe invloed op hartspierfunctie, kan remodelering ook de directe effecten van de DNA mutaties op sarcomeerfunctie maskeren. In Hoofdstuk 3 is daarom de myofibrildichtheid en de oppervlakte van individuele hartspiercellen met mutaties in genen (*MYBPC3*, *MYH7*, *TPM1*, *TNNI3* en *TNNT2*) die coderen voor verschillende sarcomeereiwitten vergeleken ( $\text{HCM}_{\text{mut}}$ ) met HCM hartspiercellen zonder een mutatie ( $\text{HCM}_{\text{smn}}$ ), hartspiercellen van patiënten met hypertrofie door aorta stenose ( $\text{LVH}_{\text{ao}}$ ) en hartspiercellen van de controlegroep. Niet alleen de oppervlakte van de  $\text{HCM}_{\text{mut}}$  hartspiercellen was groter (cellulaire hypertrofie) dan die van de  $\text{HCM}_{\text{smn}}$  hartspiercellen, ook de afname in myofibril dichtheid was groter in  $\text{HCM}_{\text{mut}}$  dan in  $\text{HCM}_{\text{smn}}$  en  $\text{LVH}_{\text{ao}}$  hartspiercellen ten opzichte van de controlegroep. Bovendien was er een negatieve correlatie tussen myofibrildichtheid en de oppervlakte van de hartspiercellen. Daarnaast is de maximale kracht gemeten in individuele  $\text{HCM}_{\text{mut}}$ ,  $\text{HCM}_{\text{smn}}$ ,  $\text{LVH}_{\text{ao}}$  en donator hartspiercellen en in myofibrillen. De maximale kracht was lager in alle HCM hartspiercellen, maar vooral in hartspiercellen met *MYH7* mutaties, vergeleken met hartspiercellen van de controlegroep. Daarbij werd de maximale kracht in

*MYH7* hartspiercellen niet genormaliseerd naar donor waarden na correctie voor myofibrildichtheid, wat wel het geval was voor hartspiercellen met een *MYBPC3* mutatie. Dit werd bevestigd door krachtmetingen in individuele myofibrillen met *MYH7* mutaties. De afname in maximale kracht in HCM hartspiercellen wordt dus vooral veroorzaakt door cellulaire hypertrofie en afname in myofibril dichtheid. Echter, als er een *MYH7* mutatie in het spel is, lijken hypocontractiele sarcomeren veroorzaakt te worden door de aanwezige mutatie.

### **Regionale versus globale contractiliteit**

HCM patiënten krijgen in de kliniek niet de diagnose systolische disfunctie, terwijl HCM mutaties zowel direct als indirect een afname in maximale kracht op cellulair niveau lijken te veroorzaken (Hoofdstuk 2&3). Daarom is in Hoofdstuk 4 naast de *in vitro* maximale krachtmetingen in de hartspiercellen van HCM patiënten met verschillende mutaties ook gekeken naar *in vivo* regionale hartspierfunctie met behulp van speckle tracking echocardiografie bij dezelfde HCM patiënten. De regionale deformatie van de hartspier was afgenomen in de HCM patiënten tijdens de systole, welke positief correleerde met de afname in maximale kracht, gegenereerd door de individuele hartspiercellen van deze patiënten. Ook al is de globale systolische functie van HCM patiënten dus veelal intact, op regionaal niveau is de systolische functie wel afgenomen door de lagere maximale kracht van de hartspiercellen.

### **Energetische disfunctie op sarcomeer niveau**

Een maat voor de energetische status in het hart is de PCr/ATP ratio. Bij hartfalen is deze ratio lager, wat aangeeft dat er een mismatch is tussen ATP (energie) aanbod en ATP-verbruik. Dat deze mismatch ook aanwezig is in HCM met verschillende mutaties is gebleken uit zowel dieren- als patiëntenstudies. Een eerdere studie in humaan HCM weefsel met de R403Q mutatie in *MYH7*, coderend voor het dikke filament eiwit myosine zware keten, legde het verband tussen een snellere interactie van myosine met actine (i.e. kruisbrug kinetiek) en ATP-verbruik. In Hoofdstuk 5 is dit verband direct aangetoond. De R403Q mutatie is interessant, omdat het zich bevindt in het myosine kopje (S1) dat direct interacteert met actine. Relaxatie kinetiek is gemeten in myofibrillen van een drietal patiënten met deze mutatie en de energetische kosten (ATP-verbruik) om een bepaalde hoeveelheid kracht te genereren in multicellulaire hartspierstripjes van deze drie patiënten. Als controlegroep werd weefsel van HCM<sub>smn</sub> patiënten gebruikt. De relaxatie kinetiek was sneller in de R403Q myofibrillen en het ATP-verbruik was inderdaad hoger wat ten koste ging van de hoeveelheid kracht die gegenereerd werd door R403Q hartspierstripjes. De R403Q mutatie is een heterozygote mutatie wat zowel een gezond als een ziek allel oplevert. 100% expressie van het gemuteerde eiwit in het sarcomeer komt vrijwel niet voor. De relaxatie kinetiek van de kruisbruggen was positief gecorreleerd aan de energetische kosten om kracht te genereren, maar beide parameters waren onafhankelijk van de hoeveelheid aanwezige gemuteerde *MYH7* mRNA. Hoofdstuk 6 beschrijft de effecten van een homozygote mutatie op sarcomeerfunctie. De K280N mutatie in *TNNT2*, coderend voor het dunne filament eiwit troponine T, levert 100% gemuteerd eiwit op, wat ook in het sarcomeer ingebouwd wordt. Ook de K280N mutatie laat een toename zien in

kruisbrugrelaxatie vergeleken met controle myofibrillen. Ook hier waren de energetische kosten om kracht te genereren vele malen hoger in K280N spierstripjes vergeleken met HCM<sub>smn</sub>. De aanwezigheid van een homozygote mutatie in het hartspierweefsel bood de mogelijkheid om te onderzoeken of het daadwerkelijk de mutatie was die interfereerde met kruisbrugkinetiek en ATP-verbruik. Het uitwisselen van het gemuteerde eiwit met recombinant gezond eiwit in zowel myofibrillen als de multicellulaire hartspierstripjes verlaagde zowel de relaxatie kinetiek als de energetische kosten om kracht te genereren. Dit bevestigde het causale verband tussen de aanwezigheid van de mutatie en de gevonden functionele sarcomeerdefecten.

Naast de invloed van de aanwezigheid van een mutatie op sarcomeerfunctie is ook de invloed van mutatielocatie interessant. Hoofdstuk 7 beschrijft dit effect op de energetische kosten om kracht te genereren, gericht op mutaties in *MYBPC3*, coderend voor myosine bindend eiwit C, en *MYH7*. Ook is de mogelijke invloed van linkerventrikel hypertrofie meegenomen. Daartoe is hartspierweefsel van zowel HCM<sub>smn</sub> patiënten als van LVH<sub>ao</sub> patiënten als controlegroep gebruikt. De energetische kosten om kracht te genereren waren hoger in zowel de *MYBPC3* als *MYH7* mutatiegroepen, wat de invloed van de aanwezigheid van een mutatie bevestigt. Daarbij bleken mutaties in het C5-C7 domein van myosine bindend eiwit C en mutaties in het S1 domein van myosine zware keten meer effect te hebben op sarcomeerfunctie vergeleken met mutaties in de andere domeinen wat de invloed van mutatielocatie weergeeft. Een even grote toename in de energetische kosten om kracht te genereren was zichtbaar in hartspierstripjes van LVH<sub>ao</sub> patiënten als in de hartspierstripjes van HCM<sub>mut</sub> patiënten. Echter, de mate van linkerventrikel hypertrofie was groter in de HCM patiënten vergeleken met LVH<sub>ao</sub> patiënten. Linkerventrikel remodelering heeft dus effect op de energetische kosten om krachten te genereren op sarcomeer niveau. Het onderliggende mechanisme in secundaire linkerventrikel hypertrofie zoals aanwezig in LVH<sub>ao</sub> patiënten lijkt te verschillen met primaire linkerventrikel hypertrofie in HCM.

Omdat de energetische kosten om kracht te genereren op cellulair niveau hoger is in hartspierweefsel van manifeste HCM patiënten, was de volgende vraag of dit ook al zichtbaar is op globaal niveau in een vroeg stadium van HCM. Namelijk, het stadium waarbij de mutatie aanwezig is, maar de karakteristieke linkerventrikel hypertrofie niet. Dit wordt beschreven in Hoofdstuk 8. Ook hier zijn de *in vitro* metingen in hartspierweefsel van manifeste HCM patiënten met *MYBPC3* en *MYH7* mutaties gekoppeld aan *in vivo* bepalingen van de efficiëntie van het hart in pre-hypertrofische dragers van deze mutaties. Voor het *in vitro* deel is weefsel van HCM<sub>smn</sub> patiënten als controle gebruikt en voor het *in vivo* deel zijn gezonde vrijwilligers gebruikt. Naast de gevonden hogere energetische kosten om kracht te genereren in de spierstripjes met deze mutaties, bleek de myocardiale externe efficiëntie (MEE) onderzocht met behulp van PET en MRI, lager in de pre-hypertrofische mutatiedragers dan in de gezonde vrijwilligers. Bovendien waren beide parameters meer aangedaan in zowel de manifeste HCM patiënten met *MYH7* mutaties als de pre-hypertrofe *MYH7* mutatiedragers. Dit bewijst dat in humaan HCM een metabolische behandeling, gericht op de energiehuishouding in het hart al in een vroeg stadium van HCM bevorderlijk kan zijn.

## De conclusies van dit proefschrift

De afname in maximale krachtgeneratie door HCM hartspiercellen met verschillende mutaties in genen die coderen voor sarcomeer-eiwitten wordt veroorzaakt door cellulaire remodelering in de vorm van cellulaire hypertrofie en afname in myofibrildichtheid. Echter, een gemuteerde vorm van myosine zware keten, ingebouwd in het sarcomeer, draagt direct bij aan de afname in maximale kracht en veroorzaakt hypocontractiele sarcomeren (Hoofdstukken 2&3). Bovendien, correleert de afname in maximale kracht met de systolische deformatie van het hart op regionaal niveau. Regionale systolische dysfunctie lijkt HCM ontwikkeling te initiëren, vooral in HCM met *MYH7* mutaties (Hoofdstuk 4). HCM mutaties beïnvloeden, naast de maximale krachtontwikkeling van HCM hartspiercellen, ook de relaxatie kinetiek van de sarcomeren en energetische kosten om krachten te genereren. Zowel de *MYH7* R403Q en *TNNT2* K280N mutatie verhogen de relaxatie kinetiek, wat direct correleerde met een toename in de energetische kosten om kracht te genereren (Hoofdstuk 5&6). Veranderingen in deze parameters van sarcomeerfunctie werden tenietgedaan wanneer het gemuteerde K280N troponine T vervangen werd door het recombinante gezonde eiwit (Hoofdstuk 6). Het is gebleken dat mutaties in *MYBPC3* en *MYH7* de efficiëntie van het hart doen afnemen in zowel manifest HCM weefsel als in pre-hypertrofische mutatiedragers (Hoofdstukken 7&8). Dit effect was het meest zichtbaar in individuen met *MYH7* mutaties, maar sterk afhankelijk van mutatielocatie (Hoofdstuk 7). Een toekomstig medicijn ter voorkoming van of als behandeling van manifeste HCM zou zich moeten richten op de efficiëntie van de pompfunctie van het hart (Hoofdstukken 7&8).

## List of Publications

### Articles

1. **Witjas-Paalberends ER**, Ferrara C, Scellini B, Montag J, Stienen GJM, Michels M, Ho CY, Kraft T, Poggesi C, van der Velden J. Faster cross-bridge detachment and increased tension cost in human hypertrophic cardiomyopathy with the R403Q *MYH7* mutation. *Journal of Physiology* 2014;592:3257-3272.
2. **Witjas-Paalberends ER\***, Güçlü A\*, Germans T, Knaapen P, Harms HJ, Vermeer AMC, Christiaan I, Wilde AAM, dos Remedios CG, Lammertsma AA, van Rossum AC, Stienen GJM, van Slegtenhorst M, Schinkel AF, Michels M, Ho CY, Poggesi C, van der Velden J. Gene-specific increase in the energetic cost of contraction in hypertrophic cardiomyopathy caused by thick filament mutation. *Cardiovascular Research* 2014;103:248-257. \*These authors contributed equally to this work.  
  
*With editorial by J.S. Ingwall "The energetic cost of contraction is higher in the myocardium of patients with hypertrophic cardiomyopathy".*
3. Wijnker PJM, Sequeira V, **Witjas-Paalberends ER**, Foster DB, dos Remedios CG, Murphy AM, Stienen GJM, van der Velden J. Phosphorylation of protein kinase C sites Ser42/44 decreases  $Ca^{2+}$ -sensitivity and blunts enhanced length-dependent activation in response to protein kinase A in human cardiomyocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2014; 554:11-21.
4. Sequeira V, **Witjas-Paalberends ER**, Kuster DWD, van der Velden J. Cardiac myosin-binding protein C: hypertrophic cardiomyopathy mutations and structure function relationships. *Pflugers Archive* 2014;2:201-206.
5. Güçlü A, Germans T, **Witjas-Paalberends ER**, Stienen GJM, Brouwer WP, Harms HJ, Marcus JT, Vonk ABA, Stooker W, Yilmaz A, Klein P, Ten Berg JM, Kluijn J, Asselbergs FW, Lammertsma AA, Knaapen P, van Rossum AC, van der Velden J. Energetics in hypertrophic cardiomyopathy: translation between MRI, PET and cardiac myofilament function (ENGINE study). *Netherlands Heart Journal* 2013;12:567-571.
6. **Witjas-Paalberends ER**, Piroddi N, Stam K, van Dijk SJ, Oliviera VS, Ferrara C, Scellini B, Hazebroek M, Ten Cate FJ, Van Slegtenhorst M, Dos Remedios CG, Niessen HWM, Tesi C, Stienen GJM, Heymans S, Michels M, Poggesi C, van der Velden J. Mutations in *MYH7* reduce the force generating capacity of sarcomeres in human familial hypertrophic cardiomyopathy. *Cardiovascular Research* 2013;99:432-441.
7. Kraft T, **Witjas-Paalberends ER**, Boontje NM, Tripathi S, Brandis A, Montag J, Hodgkinson JL, Francino A, Navarro-Lopez F, Brenner B, Stienen GJM, van der Velden J. Familial hypertrophic cardiomyopathy: functional effects of myosin mutation

R723G in cardiomyocytes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2013;57:13–22.

8. Wijnker PJM\*, Sequeira V\*, Nienkamp LAM, Kuster DWD, Najafi A, **Witjas-Paalberends ER**, Regan JA, Boontje NM, ten Cate FJ, Germans T, Carrier L, Sadayappan S, van Slegtenhorst MA, Zaremba R, Foster DB, Murphy AM, Poggesi C, dos Remedios CG, Stienen GJM, Ho CY, Michels M, van der Velden J. Perturbed length-dependent activation in human hypertrophic cardiomyopathy with missense sarcomeric gene mutations. *Circulation Research* 2013;112:1491-1505. \*These authors contributed equally to this work.
9. Kuster DWD, Sequeira V, Najafi A, Boontje NM, Wijnker PJM, **Witjas-Paalberends ER**, Marston SB, dos Remedios CG, Carrier L, Demmers JAA, Redwood C, Sadayappan S, van der Velden J. GSK3 $\beta$  phosphorylates newly identified site in the Pro-Ala rich region of cardiac myosin binding protein C and alters cross-bridge cycling kinetics in human. *Circulation Research* 2013;112:633-639.
10. Van Dijk SJ, **Paalberends ER**, Najafi A, Michels M, Sadayappan S, Carrier L, Boontje NM, Kuster DWD, Van Slegtenhorst M, Dooijes D, Dos Remedios CG, Ten Cate FJ, Stienen GJM, van der Velden J. Contractile dysfunction irrespective of the mutant protein in human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation Heart Failure* 2012;5:36–46.

## Abstracts

1. **Witjas-Paalberends ER**, Ferrara C, Scellini B, Montag J, Stienen GJM, Michels M, Ho CY, Kraft T, Poggesi C, van der Velden J. Faster cross-bridge relaxation rates correlate with increased tension cost in HCM with the R403Q *MYH7* mutation. *Biophysical Journal* 2014; 106:561a
2. Vriesendorp PA, **Witjas-Paalberends ER**, Schinkel A, Sequeira V, Soliman O, Ten Cate F, van der Velden J, Michels M. Association between contractile dysfunction of the sarcomere and impaired regional systolic strain in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:A727
3. **Witjas-Paalberends ER**, Canton M, Van Slegtenhorst M, Michels M, Ho CY, Poggesi C, Stienen GJM, di Lisa F, van der Velden J. Actin carbonylation is higher in human HCM due to *MYH7* mutations. *Biophysical Journal* 2014; 106:778a–779a.
4. **Witjas-Paalberends ER\***, Güçlü A\*, Germans T, Knaapen P, Harms HJ, Vermeer AMC, Christiaans I, Wilde AAM, dos Remedios CG, Lammertsma AA, van Rossum AC, Stienen GJM, van Slegtenhorst M, Schinkel AF, Michels M, Ho CY, Poggesi C, van der Velden J. An *in vitro* and *in vivo* assessment of cardiac contraction reveal a gene-

specific increase in energetic cost in HCM due to mutations in *MYBPC3* and *MYH7*. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:A819. These authors contributed equally to this work.

5. Ferrara C, **Witjas-Paalberends ER**, Piroddi N, Scellini B, Tesi C, Sequiera V, dos Remedios CG, Schlossarek S, Leung J, Carrier L, Redwood C, Marston S, van der Velden J, Poggesi C. The HCM-associated cardiac troponin T mutation K280N increases the energetic cost of tension generation in human cardiac myofibrils. *Biophysical Journal*. 2013;104:187a.
6. van Der Velden J, **Witjas-Paalberends ER**, Stienen GJM, Dos Remedios CG, Ten Cate FJ, Ho CY, Michels M, Poggesi C. Increased energy utilization for force generation in human familial hypertrophic cardiomyopathy caused by sarcomere gene mutations. *European Heart Journal* 2013;34:P4192
7. **Paalberends ER**, Stam K, van Dijk SJ, van Slegtenhorst M, dos Remedios CG, ten Cate FJ, Niessen HWM, Stienen GJM, Michels M, van der Velden J, Cardiomyocyte hypertrophy and reduced myofibril density underlie decreased maximal force generating capacity in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Biophysical Journal* 2012;102:353a.
8. Kraft, T, Boontje, NM, **Paalberends, ER**, Tripathi S, Francino A, Navarro-Lopez F, Brenner, B, Stienen GJM, van der Velden J. Functional effects and adaptational processes triggered by familial hypertrophic cardiomyopathy related  $\beta$ -myosin mutation ARG723GLY in human cardiomyocytes. *Acta Physiologica* 2011;201,S682.



## Dankwoord

De afgelopen 4 jaar zijn ontzettend snel gegaan en ik kan nog steeds niet helemaal geloven dat het echt af is: mijn proefschrift! En ja, natuurlijk zijn er zijn veel mensen die ik graag wil bedanken die mij de afgelopen jaren geholpen hebben of die op een andere manier een belangrijke rol hebben gespeeld in mijn “PhD-student” bestaan.

Allereerst wil ik Jolanda en Ger, mijn promotoren, bedanken. Beste Jolanda, jij was degene die mij eind 2009 e-mailde met de vraag wat ik er van zou vinden om als promovenda aan de slag te gaan binnen een nieuw Europees project. Ik moest toen nog aan mijn tweede masterstage beginnen en ook nog beslissen of ik überhaupt promotieonderzoek zou willen doen. Maar de projectbeschrijving en jouw enthousiaste verhalen over de mogelijkheden trokken mij over de streep en ben dan ook na mijn afstuderen in 2010 onder jouw hoede aan de slag gegaan. Hierbij wil ik je graag bedanken dat je mij deze kans hebt gegeven. Ik heb enorm veel van je geleerd. Bovendien gaf je me de gelegenheid om verschillende studies op me te nemen zodat de afgelopen vier jaar geen lang meeslepend proces is geweest, maar vol afwisseling zat. Ik heb genoten en veel geleerd van de internationale omgeving waarin ik mijn promotieonderzoek heb mogen doen. Beste Ger, ik ken u sinds mijn eerste fysiologiecollege die ik volgde als eerstejaars MNW student en nu bent u ook mijn promotor. U stond altijd als adviseur klaar. Eerst stond u mij bij tijdens het onder de knie krijgen van de ATPase opstelling die destijds behoorlijk wat kuren had. Later in de rol van het kritisch lezen van de manuscripten die u altijd voorzag van “pakkend” en soms zelfs ook humoristisch commentaar.

*Fabio di Lisa en Marcella Canton. Thank you for introducing me into the world of oxidative stress and for the hospitality in your lab. It was a great experience.*

Nicky, jij hebt mij nagenoeg alles geleerd op het lab. Van myocieten tot spierstripjes. De vragen van mijn kant vond je nooit vervelend en je hebt me altijd geholpen! Ik bewonder je grote stap om een eigen B&B te beginnen op Zanzibar. Wat ik op Facebook voorbij zie komen ziet er allemaal supermooi uit. Het staat op de bucket list hoor! Heel veel succes!

Natuurlijk verdient ook de werkplaats een plek in dit dankwoord voor het altijd klaar staan bij problemen met de experimentele opstellingen. Peter, bedankt dat de krachtopnemer snel weer in topvorm was als ik er 1 had weten te ruïneren.

Lieve kamergenootjes, ik vond het heel leuk om samen het hele traject te hebben kunnen volgen en tegelijk dezelfde dingen mee te maken. Van 1<sup>e</sup> projectpresentatie op de afdeling tot het 1<sup>e</sup> geaccepteerde artikel en nu ook de afronding. Emmy, heel veel succes met de afronding van je boekje en het aanvragen van de benodigde beurzen zodat je straks richting Australië kan! Silvia, ik bewonder hoe snel jij Nederlands hebt leren spreken. Super lief dat je mijn paranimf wilt zijn. Heel veel succes in je verdere carrière als neuroloog! Michiel, de enige man in C170. Heel veel succes met de afronding van je boekje en je verdere carrière! *Barbara, you were the newbie of the room. I know you don't like it that most of your roomies*

*are finishing up right now, but at least you'll get "my" place near the window in C170. Good luck with your research and thesis!*

Alle collega promovendi van de hart/skeletspiergroep, heel veel succes met de afronding van jullie promotieonderzoek! *Vasco, I admire your thoroughly thinking and enthusiasm about the basic muscle mechanisms. Good luck with finishing up your thesis and your career in research.* Louise, ook veel succes met je verdere geneeskunde opleiding. Aref, je was altijd een beetje mijn "sparring"maatje, dankjewel voor je adviezen. Ahmet, we hebben samen een artikel geschreven. Het was altijd erg prettig om met je samen te werken. Dankjewel. Ik hoop dat je een mooie opleidingsplaats tot cardioloog krijgt na je promotie. Ilse, het was leuk om je zo tijdens de laatste maanden van mijn promotietraject te hebben mogen inwerken op de ATPase opstelling en de oxyblots. Ik hoop dat je veel aan deze technieken gaat hebben. Heel veel succes en vooral ook plezier de komende jaren en het gaat goed komen, ook met de myocietmetingen! Constantijn, bedankt voor de gezelligheid in Les Diablerets bij de HFA Winter Meetings, en op het lab als "spierstrip"collega! Heel veel succes in je verdere carrière als cardioloog. Josine, Pleuni en Saskia, bedankt voor de gezelligheid op het lab zo tijdens het meten. Paul, bedankt dat je mij hebt geïntroduceerd in de wereld van de exchange experimenten. Heel veel succes tijdens je postdoc in Hamburg. Diederik, Elza, Rob W en Vaishali, heel veel succes tijdens jullie postdoc op de Fysiologie afdeling. Ook een groot woord van dank aan alle analisten. Ruud, Max, Wies, Sanne, Sylvia en Ingrid, bedankt voor alle hulp. Jullie zijn echt rotsen in de branding op het lab.

Kelly en Nadia, bedankt voor jullie bijdragen aan mijn onderzoek. Ik vond het erg leuk om jullie te mogen begeleiden tijdens jullie bachelor- en masterstages. Heel veel succes met jullie promotieonderzoek!

Ook wil ik graag Andreas, Duncan, Sabine, Nazha, Joanna, Manon, Michiel H, Gerrina, Ali, Chris, Denielli, Charissa, Frances, Rob v.d. A, Jan, Michiel W, Sophie, Robert, Rob J, Melissa, Nina, Ester, Lynda, Femke, Marloes, Erik V, Erik v.d. P, Tessa, Rick, Aziz en Dimitar bedanken voor de gezelligheid en hulp in en om het lab! Hierbij horen ook de stafleden, bedankt voor de adviezen en inspirerende vragen tijdens afdelingspraatjes.

Aimee en Hans, jullie waren echt een steun en toeverlaat bij allerlei administratieve klusjes, bestellingen, de afronding van mijn proefschrift en alles wat daarbij komt kijken. Bedankt!

Ook wil ik mijn nieuwe "promotievriendinnetjes" bedanken voor alle steun, goede gesprekken en gezelligheid. De Dummies: Kim en Wendy. Wij als "Dummies" hebben toch maar die saaie statistiekcursus opgeleukt! Super dat we na drie jaar nog steeds de twee maandelijkse (tenminste, dat proberen we) etentjes hebben. Kim, heel veel succes straks tijdens je postdoc in Australië. Die beurzen komen helemaal goed. We komen je zeker een keer opzoeken. Wendy, nog even doorbikkelen en dan is ook jouw boekje klaar! Rianne, we kennen elkaar van de Papendalcursus en de DGJM. Voor jou ook nog wat laatste loodjes, maar die artikelen gaan er komen! Ik hoop dat we nog vaak gezellig kunnen bijkletsen over het wel en wee in onze leventjes.

Lieve vrienden behoren natuurlijk ook woord van dank te krijgen voor alle steun, luisterend oor en de vrolijke noot de afgelopen jaren! Arna, van samen in het MENS-bestuur tijdens onze studie tot allebei gepromoveerd en dat in minder dan 10 jaar. Je zei het al eerder, maar het is inderdaad erg fijn om iemand om je heen te hebben die hetzelfde doormaakt en kan zeggen "het komt goed". Heel veel succes tijdens je postdoc in Londen. Een weekendje shoppen daar zie ik al helemaal zitten! Ilse, bedankt voor je luisterend oor en gezelligheid. Ik ben heel blij dat ook jij mijn paranimf wilt zijn. Lieve middelbare schoolvriendinnetjes Eline, Aafke, Gerdien en Lydia. We zijn (bijna) allemaal een hele andere kant opgegaan en toch is het ontzettend leuk dat we nog steeds zo nu en dan bijkletsen tijdens een etentje. Bo&Lucas, Virender&Sharon en Robert, bedankt voor de gezelligheid afgelopen tijd. Dat er maar meerdere spelletjesavonden mogen komen! Virender, bedankt voor het ontwerpen van de cover van mijn boekje. Ik vind het echt heel mooi geworden! Super leuk hoe je deze taak enthousiast op je nam. Mark&Yvonne, jullie waren altijd geïnteresseerd in de voortgang van artikelen en mijn toekomstplannen. Dat er nog maar vele gezellige avonden en festivals mogen volgen zo met ons vieren!

Lieve familie en schoonfamilie, bedankt dat jullie altijd geïnteresseerd waren in wat ik allemaal uitspookte op de VU en een hart onder mijn riem hebben gestoken wanneer dit nodig was! Zonder jullie vele goedbedoelde adviezen, steun en interesse zou het de afgelopen jaren een heel stuk moeilijker geweest zijn. Ik heb het enorm gewaardeerd!

Mark, lieve schat, als er iemand is die altijd en overal achter me staat ben jij het wel! Dankjewel voor het zijn wie je bent. Samen kunnen we de hele wereld aan. Ik houd van je, voor altijd!

## Curriculum Vitae

Rosalie Witjas-Paalberends (1986) werd geboren in Kampen. Na het behalen van haar gymnasium diploma in 2005 startte zij met de universitaire bacheloropleiding Medische Natuurwetenschappen aan de Vrije Universiteit in Amsterdam. Deze werd vervolgd met de masteropleiding Medical Natural Sciences in 2008 met als specialisaties Cardiovascular Physiology en Management & Policy Analysis in Health & Life Sciences. Ze heeft stage gelopen bij het Institute for Cardiovascular Research van de Vrije Universiteit in Amsterdam (ICaR-VU) en bij de afdeling Clinical Research van het farmaceutische bedrijf sanofi-aventis in Gouda. In 2010 is ze begonnen met promotieonderzoek op de fysiologieafdeling binnen het instituut voor cardiovasculair onderzoek (ICaR-VU) van het VU Medisch Centrum onder begeleiding van prof. dr. Jolanda van der Velden en prof. dr. Ger Stienen, in nauwe samenwerking met dr. Michelle Michels van de afdeling Cardiologie in het Erasmus Medisch Centrum in Rotterdam. Zij heeft onderzoek gedaan naar de invloed van cellulaire remodelering en DNA mutaties op sarcomeerfunctie in humane familiale hypertrofische cardiomyopathy (HCM). In 2013 heeft ze een werkbezoek gebracht aan de universiteit van Padova in Italië met als doel het onderzoeken van oxidatieve stress op sarcomeer eiwitniveau in humaan HCM hartweefsel onder begeleiding van prof. dr. Fabio di Lisa en dr. Marcella Canton. Hiervoor heeft ze financiële steun ontvangen van Stichting De Drie Lichten van de Universiteit Leiden. Verder is ze van 2011 tot 2013 lid geweest van de onderwijscommissie van het ICaR-VU waarin ze verantwoordelijk was voor het organiseren van mini-symposia over algemene wetenschappelijke vorming voor PhD-studenten van het ICaR-VU. Per 1 augustus 2014 is ze werkzaam bij PwC Advisory Consulting.

*Eline Rosalie Witjas-Paalberends (1986) was born in Kampen. After secondary school (pre-university education) she started with the academic bachelor study Medical Natural Sciences at the VU University in Amsterdam in 2005. After receiving her bachelor of science degree in 2008 she started with the master study Medical Natural Sciences with the specializations Cardiovascular Physiology and Management & Policy Analysis in Health & Life Sciences. She performed internships at the Institute for Cardiovascular Research of the VU University (ICaR-VU) in Amsterdam and at the Clinical Research department of pharmaceutical company sanofi-aventis in Gouda. In September 2010 she started her PhD research at the ICaR-VU under supervision of prof. dr. Jolanda van der Velden and prof. dr. Ger Stienen, in close collaboration with dr. Michelle Michels of the Cardiology department of the Erasmus Medical Center in Rotterdam. She investigated the role of cellular remodeling and DNA mutations on sarcomere function in human hypertrophic cardiomyopathy (HCM). In 2013 she visited the University of Padova in Italy for which she received financial support of Stichting De Drie Lichten of Leiden University. She studied the role of oxidative stress at the myofilament level in human HCM cardiac tissue under supervision of prof. Fabio die Lisa, PhD and Marcella Canton, PhD. In addition, she was a member of the ICaR-VU education committee in which she was responsible for organizing mini-symposia regarding general scientific education for ICaR-VU PhD-students. From August 2014 onwards she works at PwC Advisory Consulting.*