

When lamin A/C fails, the heart suffers

Citation for published version (APA):

Van Berlo, J. H. (2006). *When lamin A/C fails, the heart suffers*. *Datawyse / Universitaire Pers Maastricht*. <https://doi.org/10.26481/dis.20060922jb>

Document status and date:

Published: 01/01/2006

DOI:

[10.26481/dis.20060922jb](https://doi.org/10.26481/dis.20060922jb)

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



Inherited forms of heart failure form an important part of the total heart failure population. Familial heart failure has been recognised as a disease entity from the 60's. However, before the first gene was found to cause familial heart failure, or DCM, it took 30 years. At this point, 15 years after the first discovery of a gene mutation that leads to dilated cardiomyopathy, mutations have been found in about 20 different genes. However, we are still not able to find a gene mutation in more than 60-70% of the families with inherited heart failure. Main problem could be that heart failure is a common final pathway for many different errors or flaws in myocardial architecture or its molecular biology. How all these different mutations in different genes lead to heart failure is unknown.

We hypothesised that careful clinical observation might identify special forms of heart failure that can only be caused by a few different genes, when mutated. In this thesis we focussed on mutations in the lamin A/C gene. At the start of this thesis we knew lamin A/C mutations could cause 4 different diseases. Three of these involved muscular and/or myocardial tissues. We identified the common clinical cardiological characteristics of these 3 diseases. The prognosis of all three is determined by the cardiac involvement in the disease. Early in the disease course patients usually show mild dysrhythmias that can progress to severe conduction system disease. Heart failure usually begins years after the first signs of cardiac involvement. However, some patients show rapid progressive disease with need of cardiac transplantation at young age. We furthermore found that many patients die suddenly and this sudden death occurs despite the presence of a pacemaker.

Based on the clinical characteristics of patients we hypothesised that primary fibrosis in the heart might play a key role in the cardiac pathophysiology. We tested this hypothesis with basic science. With the use of cells derived from the lamin A/C knock-out mouse, in which the gene that codes for lamins A and C is genetically removed, we showed that absence of lamin A/C indeed induced enhanced proliferation and increased collagen production in fibroblasts. We furthermore could show that the mechanism that might be responsible for these pro-fibrotic characteristics in absence of lamin A/C is depending on the growth factor Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- β 1). Stimulation with TGF- β 1 leads to rapid dephosphorylation of different transcriptional modulators, such as SMAD and the retinoblastoma protein (pRB). Absence of lamin A/C resulted in aberrant dephosphorylation of these factors. Moreover, we were able to show that the protein that might be responsible for this dephosphorylation in reaction to TGF- β 1 could be the protein phosphatase 2A (PP2A). Inhibition of PP2A resulted in a lamin-deficient type of dephosphorylation of pRB and SMAD. Finally, we were able to show that lamin A/C, PP2A and the transcriptional factors involved need to be in close contact. We found in vivo interaction between these different factors.

Having established that fibrosis can result from lamin A/C deficiency on a cellular level it was very illustrative that in one family with a fibrotic cardiomyopathy a lamin A/C mutation was found. This mutation leads to a deletion of the start codon containing exon of the lamin A/C gene. We were unable to show aberrant protein, but were able to show the DNA deletion from mRNA extracted from patient material. The characteristics of this family fit the described characteristics in the beginning of this thesis. On a cellular level we were able to show decreased expression of lamins A and C in mutation carriers. We furthermore could show increased lamin containing nuclear speckles in mutation carriers. What the relevance of these speckles are remains to be investigated, but it could hint towards aberrant protein products or perhaps towards accelerated aging in cells of mutation carriers.

Due to increased myocardial fibrosis patients could be at increased risk for tachyarrhythmias. As discussed before a pacemaker alone is not enough to prevent sudden cardiac death in these patients. Moreover, we showed that indeed patients with a cardiac laminopathy can die from fast arrhythmias and that these can be treated by the implantation of an ICD. We showed this in patients that were in need of a cardiac pacemaker. Whether all patients with a cardiac laminopathy could benefit from an ICD implantation remains to be investigated.

Finally, we showed that variations in lamin A/C that are not per se disease-causing pose patients at increased risk of developing heart failure. These variations lie on a single haplotype block that spans the entire lamin A/C gene and is conserved in evolution. There seems to be a negative evolutionary selection for the haplotype that increases the risk of heart failure. Furthermore, patients that already have familial dilated cardiomyopathy that is not the result of a lamin A/C gene mutation show a worse phenotype when they are carriers of the risk lamin A/C haplotype. They develop heart failure 10 years earlier with worse cardiac function.

In short, this thesis deals with the cardiac consequences of lamin A/C gene mutations and polymorphisms. Lamin A/C mutations cause a malignant type of DCM with sudden cardiac death at a young age. Possible pathophysiological mechanism acts through increased myocardial fibrosis via aberrant dephosphorylation of transcriptional regulators in response to TGF- β 1. In a family with a lamin A/C gene mutation we could show extensive myocardial fibrosis before the development of heart failure when the only sign of the disease is mild conduction system disease. Implantation of an ICD could prevent sudden cardiac death in patients with cardiac laminopathy.

Finally, lamin A/C polymorphisms increase the risk of heart failure.

Samenvatting

De erfelijke vormen van hartfalen (of gedilateerde cardiomyopathie (DCM)) vormen een belangrijk onderdeel van de totale populatie van hartfalers. Familiair hartfalen wordt al als entiteit herkend sinds de jaren 60. Het heeft echter to de 90-er jaren geduurd voor het eerste causale gendefect werd gevonden. Op dit moment, 15 jaar na de ontdekking van dit eerste gen, zijn er gendefecten in ongeveer 20 verschillende genen gevonden. Desondanks, vinden we in zeker 60-70% van de patiënten nog geen mutatie. Een probleem bij het vinden van mutaties is dat gedilateerde cardiomyopathie het eindstadium is van een heleboel verschillende aandoeningen. Hierdoor is er nauwelijks onderscheid te maken tussen verschillende vormen van gedilateerde cardiomyopathie.

Wij veronderstellen dat nauwkeurige observatie van de klinische kenmerken van patiënten wel in staat kan zijn sommige vormen van DCM van elkaar te onderscheiden. In dit proefschrift hebben we ons gericht op hartfalen als gevolg van lamine A/C mutaties. Bij de start van het onderzoek dat ten grondslag ligt aan dit proefschrift was bekend dat deze mutaties 4 verschillende ziekten konden veroorzaken. In 3 van deze ziekten waren hart en/of skeletspieren aangedaan. De prognose wordt bij alle drie door de cardiale betrokkenheid bepaald. Deze betrokkenheid begint met vrij milde ritme- en geleidingsstoornissen op jonge leeftijd. In een periode van 10 tot 20 jaar zijn deze progressief tot pacemaker implantatie nodig is. Hartfalen ontwikkelt zich gewoonlijk pas jaren na de eerste verschijnselen van de ziekte. Desondanks is er een kleine groep patiënten die een snel progressief beloop heeft met vrij vaak noodzaak tot harttransplantatie. Verder hebben we gevonden dat veel patiënten plotseling overlijden en dat deze plotse dood optreedt ondanks de implantatie van een pacemaker.

Gebaseerd op de klinische kenmerken van patiënten met een lamine A/C mutatie veronderstellen we dat primaire fibrose een belangrijke rol zou kunnen spelen in de cardiale pathofysiologie. We hebben deze hypothese onderzocht met behulp van basaal wetenschappelijk onderzoek. Met behulp van cellen uit de lamine knock-out muis, waaruit het gen dat codeert voor lamine A/C genetisch is verwijderd, waren we in staat aan te tonen dat fibroblasten inderdaad versnelde proliferatie en verhoogde collageen depositie vertoonden, twee kenmerken van fibrose. We konden bovendien aantonen dat het waarschijnlijke mechanisme dat ten grondslag ligt aan deze pro-fibrotische karakteristieken in afwezigheid van lamine A/C afhankelijk is van transforming growth factor beta (TGF- β 1). Stimulatie met TGF- β 1 leidt tot snelle defosforylatie van transcriptie regulatoren, zoals SMADs en het retinoblastoom eiwit (pRB). Afwezigheid van lamine A/C leidt tot verminderde defosforylatie van deze factoren. Verder toonden we aan dat deze defosforylatie waarschijnlijk het gevolg is van PP2A activiteit. Inhibitie van PP2A leidt namelijk tot een zelfde gebrek aan defosforylatie als afwezigheid van lamine A/C. Deze verschillende factoren, pRB, SMAD en PP2A staan in nauw contact met lamine A/C. We hebben in vivo interactie tussen deze verschillende factoren gevonden.

Ter illustratie van deze pro-fibrotische kenmerken als gevolg van afwezigheid van lamine A/C werd in een familie met een fibrotische cardiomyopathie een lamine A/C mutatie gevonden. Deze mutatie leidt tot een deletie van het exon dat het start codon van lamine A/C bevat. We hebben geen misvormd eiwit kunnen aantonen, maar we hebben wel de DNA mutatie geïdentificeerd op het mRNA van een patiënt. De karakteristieken van deze familie komen overeen met de boven beschreven karakteristieken. Op cellulair niveau vonden we verminderde lamine A/C expressie met bovendien een toename van het aantal lamine A/C bevattende kernfoci. De exacte rol van deze foci is onbekend, maar het zou kunnen wijzen

op de vorming van misvormd eiwit of wellicht op versnelde veroudering in cellen met deze lamine A/C mutatie.

Door toename van myocardiale fibrose zouden patiënten een verhoogd risico op snelle hartritmestoornissen kunnen hebben. Zoals eerder aangegeven is een pacemaker bij deze ziekte niet in staat om plotse dood te voorkomen. Wij waren in staat om aan te tonen dat patiënten met een cardiale laminopathie inderdaad snelle hartritmestoornissen kunnen krijgen en dat deze behandeld kunnen worden met de implantatie van een defibrillator. Dit hebben we in ieder geval aangetoond in patiënten die een pacemaker nodig hebben. Of alle patiënten hierbij baat hebben zal nog verder onderzocht moeten worden.

Tenslotte hebben we aangetoond dat variaties in lamine A/C die niet per se een ziekte veroorzaken wel het risico op het krijgen van hartfalen vergroten. Deze variaties liggen op één haplotype blok dat het complete lamine A/C gen omvat en geconserveerd is tijdens de evolutie. Er lijkt een negatieve selectiedruk te bestaan tegen het haplotype dat het risico op hartfalen verhoogd. Bovendien bleek dat patiënten die al een erfelijke vorm van hartfalen hebben, niet ten gevolge van lamine A/C mutaties, een ernstigere vorm van hartfalen ontwikkelen als ze drager zijn van het risico haplotype. Ze ontwikkelen hartfalen 10 jaar eerder en krijgen een ernstigere vorm van hartfalen.

Kort samengevat laat dit proefschrift zien wat de cardiale consequenties zijn van mutaties en polymorfismen in het lamine A/C gen. Lamine A/C mutaties veroorzaken een maligne vorm van hartfalen met plotse dood op jonge leeftijd. Een mogelijk pathofysiologisch mechanisme werkt via toename van fibrosevorming door veranderde defosforylatie van transcriptionele regulatoren in reactie op TGF- β 1. In een familie met een lamine A/C mutatie zagen we uitgebreide cardiale fibrose voor het ontstaan van hartfalen met slechts milde geleidingsstoornis als uiting van de ziekte op dat moment. Implantatie van een ICD kon plotse dood voorkomen in patiënten met cardiale laminopathie.

Tenslotte vonden we dat lamine A/C polymorfismen het risico op hartfalen verhogen.