



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Unraveling The Broad NOTCH3-associated Small Vessel Disease Spectrum: from CADASIL to nonpenetrance

Hack, R.J.

Citation

Hack, R. J. (2024, November 5). *Unraveling The Broad NOTCH3-associated Small Vessel Disease Spectrum: from CADASIL to nonpenetrance*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4107696>

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/1887/4107696>

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



Appendices

Nederlandse Samenvatting

List of Abbreviations

List of Publications

Portfolio

Curriculum Vitae

Dankwoord

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Introductie

Cerebrale Autosomaal Dominante Arteriopathie met Subcorticale Infarcten en Leukoencefalopathie (CADASIL) is de meest voorkomende erfelijke aandoening van de kleine bloedvaten van de hersenen (in het Engels: “*cerebral small vessel disease*” [SVD]) en wordt gekenmerkt door vroegtijdige herseninfarcten, cognitieve achteruitgang en vasculaire dementie. CADASIL wordt veroorzaakt door specifieke varianten in de DNA-code van het *NOTCH3*-gen (*NOTCH3^{cys}*). Tot 2016 werd gedacht dat deze *NOTCH3^{cys}*-varianten zeldzaam waren en altijd leidden tot de ernstige ziekte CADASIL, die een geschatte minimale prevalentie van 2-5:100.000 heeft. In 2016 werd echter ontdekt dat *NOTCH3^{cys}*-varianten helemaal niet zeldzaam zijn en juist verrassend vaak voorkomen, namelijk bij minimaal 1 op de 300 mensen in de algemene bevolking. Deze bevinding suggereerde dat de ziekte veel milder kan verlopen en dat het ziektespectrum geassocieerd met *NOTCH3^{cys}*-varianten dus veel breder is dan voorheen werd gedacht, en dat er belangrijke ziekte-modificerende factoren moeten zijn. Een van deze potentiële ziekte-modificerende factoren is de positie van de *NOTCH3^{cys}*-variant in het *NOTCH3*-gen. Hier waren al aanwijzingen voor, want het viel op dat de meeste patiënten met CADASIL een *NOTCH3^{cys}*-variant hebben aan het begin van het *NOTCH3*-gen, terwijl in de algemene bevolking *NOTCH3^{cys}*-varianten bijna uitsluitend voorkomen in het midden en aan het einde van het *NOTCH3*-gen.

Het doel van mijn promotieonderzoek was om:

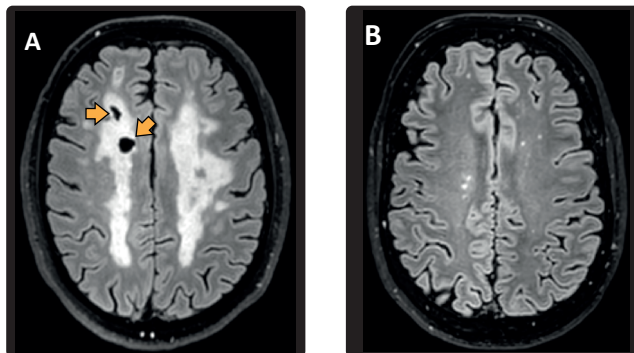
1. Het volledige small vessel disease ziektespectrum geassocieerd met *NOTCH3^{cys}*-varianten te omschrijven.
2. Te onderzoeken in welke mate het grote verschil in ziekte-ernst tussen personen met een *NOTCH3^{cys}*-variant verklaard kan worden door de positie van de variant in het *NOTCH3* gen.
3. Het effect van de positie van de *NOTCH3^{cys}*-variant op de ziekte-ernst te vergelijken met het effect van andere bekende ziekte-modificerende factoren, zoals cardiovasculaire risicofactoren en geslacht.

Dit hoofdstuk bevat een samenvatting van de achtergrondinformatie en de resultaten van het onderzoek, die staan beschreven in dit proefschrift.

CADASIL: klinische symptomen en afwijkingen op de MRI-scan

CADASIL is de meest voorkomende erfelijke cerebrale small vessel disease en wordt gekenmerkt door subcorticale herseninfarcten en progressieve cognitieve stoornissen, die meestal ontstaan rond de leeftijd van 50 jaar. In latere stadia van de ziekte ontwikkelen patiënten vasculaire demantie en verlammingen van de ledematen, wat leidt tot volledige zorgafhankelijkheid. Andere vaak voorkomende symptomen zijn migraine met aura, stemmingsstoornissen en apathie.

Op MRI-scans van de hersenen zullen als eerst *witte stof hyperintensiteiten* (afwijkingen van de witte stof van de hersenen) zichtbaar worden (Figuur 8.1). Later in het ziekteproces worden op de MRI-scan ook *lacunes* (kleine zwarte gaten), microbloedingen en uiteindelijk hersenatrofie (krimpen van de hersenen) zichtbaar.



Figuur 8.1: Representatieve MRI-scans van de hersenen van een CADASIL-patiënt en een persoon met een *NOTCH3*^{ovs}-variant uit de algemene bevolking.

(A) MRI-scan van een ongeveer 55-jarige CADASIL-patiënt met uitgebreide witte stof hyperintensiteiten (grote witte vlekken) en twee lacunes (zwarte gaten aangegeven met gele pijlen).
 (B) Een MRI-scan van een ongeveer 55-jarige persoon met een *NOTCH3*^{ovs}-variant uit de algemene bevolking met nauwelijks witte stof hyperintensiteiten (alleen enkele witte puntjes) en geen lacunes. Deze figuur illustreert dat personen met een *NOTCH3*^{ovs}-variant uit de algemene bevolking een veel mildere uitingsvorm hebben van de ziekte dan dat wat typisch wordt gezien bij CADASIL-patiënten.

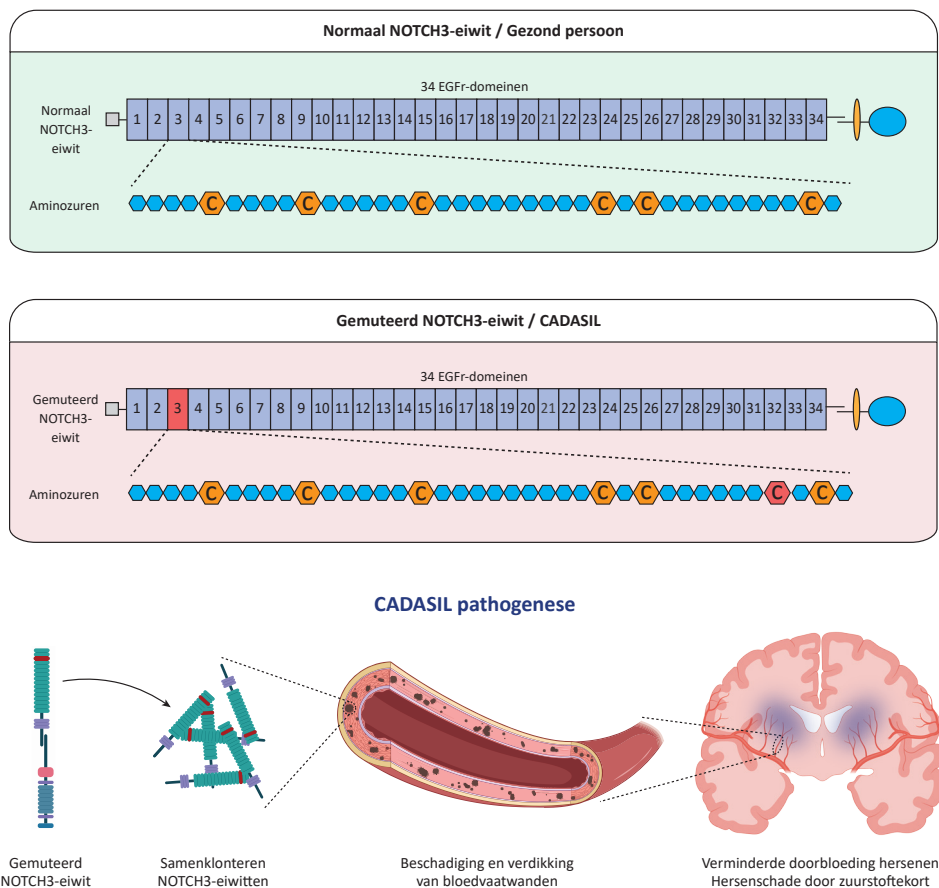
Het *NOTCH3*-gen, het NOTCH3-eiwit en de vaatafwijkingen bij CADASIL

Het *NOTCH3*-gen bevat de erfelijke code voor de aanmaak van het NOTCH3-eiwit. Het NOTCH3-eiwit is van belang voor de vorming en functie van de kleine bloedvaten van de hersenen. Het NOTCH3-eiwit bevat 34 repeterende domeinen (EGFr domeinen), elk bestaande uit ongeveer 40 aminozuren, waarvan er altijd 6 cysteïne aminozuren zijn. Deze cysteïne aminozuren zijn cruciaal voor de structuur van het NOTCH3-eiwit. CADASIL-veroorzakende *NOTCH3*^{cs}-varianten veranderen in één van de 34 EGFr domeinen het aantal cysteïne aminozuren van 6 naar 5 of 7 (Figuur 8.2). Dit leidt tot een verstoring in de structuur van het NOTCH3-eiwit, waardoor de NOTCH3-eiwitten gaan aggregeren (samenklonteren) in de wand van de kleine bloedvaten van de hersenen. Deze NOTCH3-aggregatie leidt tot een cascade van pathologische veranderingen in de kleine bloedvaten van de hersenen, waardoor er verdikking van de bloedvaatwanden optreedt en de spiercellen in de bloedvatwand niet meer goed kunnen samentrekken. Vervolgens worden de hersenen minder goed doorbloed en zal er uiteindelijk hersenschade optreden door zuurstoftekort. Deze pathologische veranderingen treden niet alleen op in de kleine bloedvaten van de hersenen, maar ook in kleine bloedvaten gelegen buiten de hersenen, zoals in de huid. Met behulp van een laboratoriumtechniek genaamd *immunohistochemie* kunnen de samengeklonterde NOTCH3-eiwitten aangetoond worden in de bloedvaatwanden van patiënten met CADASIL (Figuur 8.3).

Verschillen in ziekte-ernst en de factoren die hierin een rol spelen

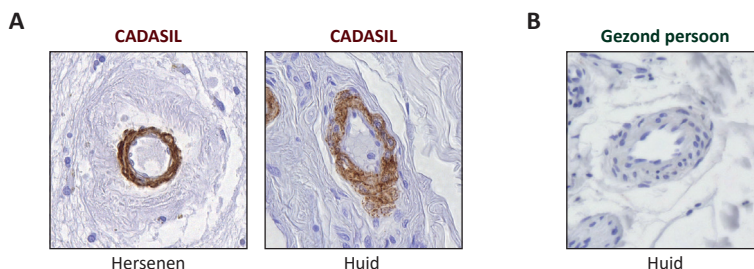
De ernst van de ziekte bij CADASIL varieert aanzienlijk, waarbij sommige personen voor hun 30^e een eerste herseninfarct krijgen, terwijl anderen op 70-jarige leeftijd nog nooit een herseninfarct hebben gehad. Voorafgaand aan mijn promotieonderzoek was het grotendeels onbekend waardoor dit verschil in ziekte-ernst werd veroorzaakt. Bij de aanvang van mijn promotieonderzoek had de onderzoeksgroep van het LUMC net ontdekt dat de positie van de *NOTCH3*^{cs}-variant in het gen een belangrijke rol speelt in de ernst van de ziekte bij CADASIL-patiënten. Daarnaast hadden eerdere studies al aangetoond dat cardiovasculaire risicofactoren, zoals een hoge bloeddruk, een rol spelen.

Om het ziektespectrum van *NOTCH3*^{cs} varianten beter in kaart te brengen, is in Hoofdstuk 2 & 3 onderzocht welke klinische symptomen en/of MRI-afwijkingen personen met een *NOTCH3*^{cs}-variant in de algemene bevolking hebben. Dit hebben wij gedaan door gebruik te maken van twee grote genetische populatiedatabases, die net beschikbaar



Figuur 8.2: Schematische weergave van het NOTCH3-eiwit en het ziektemechanisme van CADASIL.

Het NOTCH3-eiwit bevat 34 EGFr-domeinen. Elke EGFr-domein bestaat uit ongeveer 40 aminozuren, waarvan er altijd 6 cysteïne aminozuren zijn. Deze cysteïne aminozuren zijn cruciaal voor de structuur van het NOTCH3-eiwit. In dit voorbeeld is een typische *NOTCH3*^{CYS}-variant van een CADASIL-patiënt weergegeven, die zich bevindt in EGFr domein 3. Door deze *NOTCH3*^{CYS}-variant verandert in EGFr domein 3 het aantal cysteïne aminozuren van 6 naar 7. Dit zal leiden tot een verstoring van de structuur van het NOTCH3-eiwit, waardoor dit gemuteerde NOTCH3-eiwit gaat samenklonten in de wand van de kleine bloedvaten in de hersenen. Dit veroorzaakt beschadiging en verdikking van deze bloedvaten, waardoor de hersenen minder goed worden doorbloed en er uiteindelijk hersenschade optreedt door zuurstoftekort.



Figuur 8.3: NOTCH3-aggregatie in de bloedvaten van de hersenen en de huid van een CADASIL patiënt

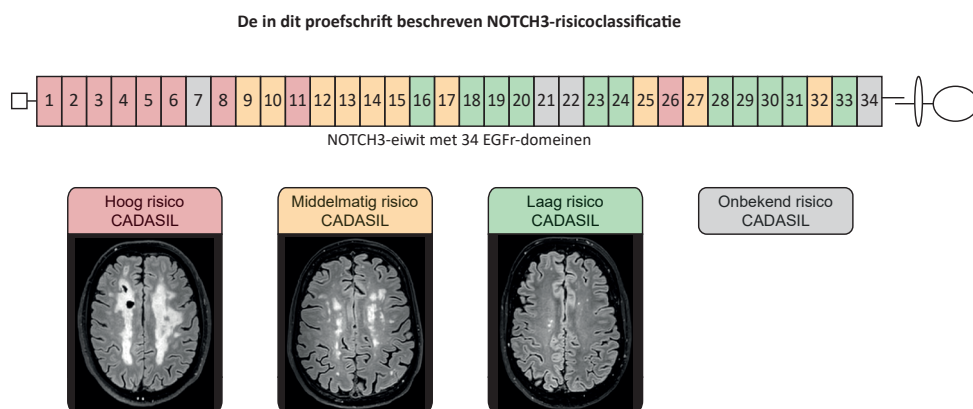
(A) NOTCH3-immunohistochemie (bruine kleuring) toont de geaggregeerde (samengeklonterde) NOTCH3-eiwitten aan in de wanden van de kleine bloedvaten in de hersenen en de huid van een CADASIL-patiënt. (B) In gezonde personen zonder een *NOTCH3*^{cys}-variant is er geen NOTCH3-aggregatie zichtbaar in de bloedvaatwanden.

waren gekomen. Het onderzoek toonde aan dat mensen met een *NOTCH3*^{cys}-variant in de algemene bevolking veel minder klinische symptomen en afwijkingen op de MRI-scan hebben dan CADASIL-patiënten. De meerderheid van deze personen had zelfs na een leeftijd van 70 jaar nog geen herseninfarct gehad. De personen met een *NOTCH3*^{cys}-variant hadden echter wel een hoger risico op herseninfarcten en meer MRI-afwijkingen dan personen zonder een *NOTCH3*^{cys}-variant. In de algemene bevolking had de overgrote meerderheid een *NOTCH3*^{cys}-variant in het midden of aan het eind van het *NOTCH3*-gen (in EGFr domeinen 7-34 van het NOTCH3-eiwit), terwijl bij de meeste CADASIL-patiënten een *NOTCH3*^{cys}-variant aanwezig was aan het begin van het *NOTCH3*-gen (in EGFr domeinen 1-6 van het NOTCH3-eiwit).

Vervolgens is in [Hoofdstuk 4](#) onderzocht of deze zeer milde uitingsvorm van de ziekte, die in de algemene bevolking werd waargenomen, ook voorkwam bij personen met een *NOTCH3*^{cys}-variant uit bekende Nederlandse CADASIL-families. Deze studie toonde aan dat sommige personen met een *NOTCH3*^{cys}-variant uit CADASIL-families nog een normale MRI-hersenen hebben tot een leeftijd van 60 jaar. Deze mensen hebben dus ook geen klachten of andere verschijnselen van de ziekte. Hiervan was alleen sprake in CADASIL-families met een *NOTCH3*^{cys}-variant in EGFr domeinen 7-34. Deze familieleden zonder klachten en verschijnselen hadden ook veel minder NOTCH3-aggregatie in de bloedvaten van de huid dan gezien wordt bij CADASIL-patiënten met klachten.

In **Hoofdstuk 5** hebben wij een prospectieve klinische studie van 200 Nederlandse CADASIL-patiënten met verschillende *NOTCH3*^{cys}-varianten verricht. Deze studie toonde aan dat CADASIL-patiënten met een *NOTCH3*^{cys}-variant in EGFr domeinen 1-6 gemiddeld 15 jaar eerder een herseninfarct krijgen dan patiënten met een *NOTCH3*^{cys}-variant in EGFr domeinen 7-34. Ook hadden patiënten met een *NOTCH3*^{cys}-variant in EGFr domeinen 1-6 een kortere levensduur en aanzienlijk meer witte stof hyperintensiteiten, lacunes en microstructurele schade op de MRI-scans van de hersenen. Na de positie van de *NOTCH3*^{cys}-variant waren geslacht, hoge bloeddruk en diabetes factoren die de ziekte-ernst beïnvloedden.

In **Hoofdstuk 6** is een nieuwe risicoclassificatie voor *NOTCH3*^{cys}-varianten ontwikkeld, waarbij op basis van de positie van de *NOTCH3*^{cys}-variant patiënten kunnen worden onderverdeeld in laag, middelmatig, of hoog risico op CADASIL (**Figuur 8.4**). Hiervoor is gebruik gemaakt van meerdere CADASIL cohorten uit de hele wereld en verschillende grote populatiebiobanken. Met behulp van deze risicoclassificatie kan de ziekte-ernst van een persoon met een *NOTCH3*^{cys}-variant beter voorspeld worden. Bij patiënten met een hoog-risico variant bleek er sprake te zijn van meer *NOTCH3*-aggregatie in de bloedvatwanden dan bij patiënten met een middelmatig- of laag risico *NOTCH3*^{cys}-variant.



Figuur 8.4: De in dit proefschrift beschreven NOTCH3-risicoclassificatie voor CADASIL.

Schematische representatie van het NOTCH3-eiwit met de 34 EGFr-domeinen. *NOTCH3*^{cys}-varianten worden ingedeeld in laag, middelmatig, en hoog risico op CADASIL op basis van het EGFr-domein waarin de *NOTCH3*^{cys}-variant zich bevindt. Doordat er nauwelijks *NOTCH3*^{cys}-varianten aanwezig zijn in EGFr-domeinen 7, 21, 22 en 34, was het niet mogelijk om deze EGFr-domeinen te classificeren.

Discussie & toekomstperspectief

In dit proefschrift is aangetoond dat het NOTCH3-SVD ziektespectrum veel breder is dan voorheen werd gedacht en dat een aanzienlijk deel van de variabiliteit in NOTCH3-SVD ziekte-ernst kan worden toegeschreven aan de positie van de *NOTCH3*^{cys}-variant, geslacht en cardiovasculaire risicofactoren. Desondanks blijft, zelfs als er rekening wordt gehouden met de eerder genoemde ziekte-modificerende factoren, een aanzienlijk deel van de variabiliteit in de ziekte-ernst van NOTCH3-SVD onverklaard. Dit blijkt uit de bevinding dat de ernst van de ziekte nog steeds sterk kan verschillen tussen personen met dezelfde *NOTCH3*^{cys}-variant, geslacht en een vergelijkbaar cardiovasculair risicoprofiel, zelfs binnen dezelfde familie. Dit wijst erop dat er nog andere belangrijke genetische en omgevingsfactoren moeten zijn, die nog niet zijn ontdekt.

De aanzienlijke technologische vooruitgang in moleculair genetisch onderzoek en de toegenomen beschikbaarheid van grote genetische populatiedatabases bieden de mogelijkheid om in de toekomst deze onbekende genetische en omgevingsfactoren te identificeren. Dit zou kunnen leiden tot de ontwikkeling van betere predictiemodellen voor het ziektebeloop, waarbij naast de positie van de *NOTCH3*^{cys}-variant, ook andere ziekte-modificerende factoren worden meegewogen. Hiermee zal het ook mogelijk worden om personen te identificeren die het meest baat hebben bij preventieve maatregelen en behandeling. Dit is van belang aangezien door de hoge frequentie van *NOTCH3*^{cys}-varianten in de bevolking, er talloze individuen wereldwijd het risico lopen op het ontwikkelen van NOTCH3-SVD met herseninfarcten en vasculaire cognitieve stoornissen. Hoewel er in de afgelopen 30 jaar aanzienlijke wetenschappelijke vooruitgang is geboekt op het gebied van CADASIL, is er helaas nog geen curatieve behandeling beschikbaar. De NOTCH3-risicoclassificatie, die in dit proefschrift wordt beschreven, zal bijdragen aan een verbeterde zorg-op-maat en het afstemmen van inclusiecriteria en uitleesmaten op de beoogde NOTCH3-SVD-doelgroep in toekomstige klinische trials.