

Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej

im. M. Mossakowskiego PAN

mgr Mariusz Berdyński

**BADANIE PODŁOŻA GENETYCZNEGO OTEPIENIA
CZOŁOWO-SKRONIOWEGO**

I

STWARDNIENIA ZANIKOWEGO BOCZNEGO

Praca doktorska wykonana w Zespole Kliniczno-Badawczym Chorób
Zwyrodnieniowych CUN IMDiK PAN

Promotor:

prof. dr hab. Cezary Żekanowski

Warszawa, 2014

STRESZCZENIE

Badania nad genetyką różnych chorób neurodegeneracyjnych mogą wytłumaczyć nie tylko nakładanie się objawów w różnych jednostkach chorobowych, ale także wyjaśnić wspólne podłoże genetyczne chorób dotyczących różnych obszarów układu nerwowego i bardzo różniących się fenotypowo np. stwardnienie zanikowe boczne (ALS) oraz otępienie czołowo-skroniowe (FTD). Otępienie czołowo-skroniowe należy do otępień neurodegeneracyjnych, charakteryzujących się klinicznie zaburzeniami poznawczymi i funkcjonalnymi, wynikającymi z postępującego uszkodzenia komórek nerwowych w różnych obszarach ośrodkowego układu nerwowego. Stwardnienie zanikowe boczne to choroba nerwowo-mięśniowa charakteryzująca się neruogennym zanikiem mięśni. ALS charakteryzuje się postępującym i wybiórczym uszkodzeniem neuronów ruchowych rogów przednich rdzenia, pnia mózgu i kory ruchowej. Obecnie przyjmuje się, że ALS i FTD są chorobami o nakładających się cechach klinicznych, patologicznych, ale także o wspólnych przyczynach genetycznych. Sugeruje to, że mogą mieć wspólny neurodegeneracyjny patomechanizm, a co za tym idzie, mogą być częścią jednej choroby o szerokim spektrum objawów.

Do chwili obecnej zidentyfikowano siedem genów, których mutacje są przyczynowo związane z FTD, z czego mutacje trzech genów (MAPT, PGRN i C9ORF72) są najczęstszą genetyczną przyczyną FTD. Spośród ponad 20 genów (<http://alsod.iop.kcl.ac.uk>) związanych głównie z rodzinną postacią ALS, najczęściej identyfikuje się mutacje w czterech: C9ORF72, SOD1, TARDBP, FUS. Opisano liczne rodziny z FTD/ALS o dziedziczeniu autosomalnie dominującym, prezentujące patologię TDP-43. Ich główną przyczyną jest ekspansja heksanukleotydowych powtórzeń w C9ORF72, będąca głównym wspólnym genetycznym czynnikiem obu schorzeń, a także również ALS-FTD.

Celem pracy było określenie podłoża genetycznego (mutacji sprawczych) u chorych z rozpoznaniem ALS, FTD i z fenotypami pokrewnymi, oszacowanie częstości występowania mutacji związanych przyczynowo z ALS, FTD i fenotypami pokrewnymi w populacji polskiej. Ocena znaczenia fenotypowego wariantów sekwencji DNA zidentyfikowanych po raz pierwszy w badanych grupach.

Badania prowadzono w grupie chorych z prawdopodobnym rozpoznaniem otępienia czołowo-skroniowego (n=138). Grupa ALS obejmowała 396 niespokrewnionych ze sobą pacjentów. Grupę kontrolną stanowiło 257 zdrowych osób. Analizowano sekwencje nukleotydowe genów PGRN i MAPT u pacjentów z FTD i SOD1 u pacjentów z ALS. W obu grupach analizowano heksanukleotydowe powtórzenia (GGGGCC)_n w pierwszym intronie C9ORF72. Analizowano możliwe znaczenia fenotypowego dwóch wybranych polimorfizmów (rs5848 i rs850713) genu PGRN w FTD i ALS.

W badanej grupie pacjentów z prawdopodobnym rozpoznaniem FTD (n=138) zidentyfikowano 15 mutacji: 6 w MAPT, 4 w PGRN i 5 w C9ORF72. Zidentyfikowano trzy nowe, nieopisane wcześniej mutacje: MAPT G55R, PGRN D317fsX11, PGRN P439_R440fsX6. Mutacje w trzech genach (PGRN, MAPT i C9ORF72) odpowiadają za 11% wszystkich przypadków FTD i 31% przypadków rodzinnych. Wśród pacjentów z ALS u 12 osób zidentyfikowano mutacje w SOD1 i u 17 w C9ORF72. Zidentyfikowano dwie nowe, nieopisane wcześniej mutacje SOD1 K3E i SOD1 W32X. Mutacje w dwóch genach (SOD1 i C9ORF72) odpowiadają za ok. 18% zachorowań na ALS wśród pacjentów z rodzinną postacią i wczesnym zachorowaniem. Istnieje związek genotypu AA polimorfizmu rs850713

PGRN z niższym ryzykiem FTD, polimorfizm rs5848 nie odgrywa znaczącej roli w ryzyku zachorowania na FTD i ALS w populacji polskiej.

Mimo że mutacje w analizowanych genach odpowiadają za znaczny procent przypadków FTD (11%) i ALS (17%), do pełniejszego obrazu wskazane jest poszukiwanie zmian w innych znanych genach, a stosunkowo rzadkich w innych populacjach. Wydaje się wskazane zastosowanie technik NGS (Next-Generation Sequencing), które pozwalają na badanie większego panelu genów, całego eksomu, czy nawet całego genomu stosunkowo szybko i małym kosztem.

ABSTRACT

The identification of the causative genes for hereditary neurodegenerative diseases has accelerated studies on the pathophysiological pathways and the development of disease. Identifying common genetic causes suggest similar pathophysiological mechanism with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontotemporal dementia (FTD). FTD is neurodegenerative disorder characterized by behavioral disturbances, language impairment and deficits in executive function caused by progressive neuronal loss predominantly involving the frontal and/or temporal lobes. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is the most common of motor neuron disease characterized by progressive neurodegeneration of motoneurons in the brain and spinal cord. Based on clinical, genetic and epidemiological data it is thought that ALS and FTD, represent an overlapping continuum of disease.

Among the seven genes known to be linked with FTD the most common genetic cause are mutations of MAPT, PGRN and C9ORF72. To date more than 20 genes have been discovered to be associated with ALS, but most common causes of ALS are mutation in C9ORF2, SOD1, TARDPB, FUS. Pathological presence of TDP-43 positive inclusions throughout the central nervous system in ALS and FTD patients is mainly due to expansion of hexanucleotide repeat in C9ORF72. A hexanucleotide GGGGCC repeat expansion in the noncoding region of the C9ORF72 gene is the most common genetic abnormality in ALS and frontotemporal dementia FTD.

The aim of the study was to establish genetic backgrounds and frequencies of mutation causing FTD and ALS in the Polish population and to investigate possible correlation between genotypes and phenotypes. The identification of novel mutations and/or atypical genotype-phenotype correlations contributes to further characterizing the disorders.

The study group comprised 138 FTD patients, 395 ALS patients and the control group consisted of 257 healthy persons. MAPT, PGRN in FTD patients and SOD1 in ALS patients were analyzed by direct sequencing. C9ORF72 repeat expansion was analyzed by repeat-primed PCR in FTD and ALS patients. To investigate association between the variants of the PGRN gene, and ALS and FTD phenotypes two polymorphism rs850713 and rs5848 were genotyped.

In group of FTD patients fifteen presumed pathogenic mutations (six MAPT, four PGRN and five C9ORF72) were identified including three novel mutation: MAPT G55R, PGRN D317fsX11, PGRN P439_R440fsX6. Mutation in three analyzed genes are responsible for 11% of all FTD and 31% of familial cases in Polish population. Analysis of two genes in ALS patients revealed twelve patients with mutation in SOD1 and seventeen in C9ORF72. The two of SOD1 mutation (K3E and W32X) were novel. Mutation in analyzed genes are identified in 18% ALS cases with familial history or early-onset

of disease. Genotypes AA of polymorphism rs850713 of the PGRN gene genotype is associated with a decreased risk of FTD. Variation at PGRN rs5848 is not associated with a risk of FTD and ALD in Polish population.

Although the mutations in the analyzed genes are responsible for a significant percentage of cases FTD (11%) and ALS (17%), it is recommended to search for mutations in other known genes, that are relatively rare in other populations. It seems reasonable to apply NGS (Next Generation Sequencing) that allow the study of the gene panels, exome, or whole genome relatively quickly and affordably.