

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Ο ρόλος της εξανουκλεοτιδικής επανάληψης C9ORF72 στα νευροεκφυλιστικά νοσήματα Νεότερα δεδομένα για τον ελληνικό πληθυσμό

Το γονίδιο *C9ORF72* κωδικοποιεί για πρωτεΐνη που εκφράζεται σε υψηλό ποσοστό στο κεντρικό νευρικό σύστημα και ο ρόλος της οποίας δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμη. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, το γονίδιο *C9ORF72* έχει συνδεθεί με έναν σημαντικό αριθμό νευροεκφυλιστικών νοσημάτων. Πιο συγκεκριμένα, μια δυναμική μεταλλαγή (επέκταση του αριθμού επαναλήψεων του εξανουκλεοτιδίου GGGGCC) του γονιδίου *C9ORF72* φαίνεται να εμπλέκεται στην αιτιοπαθογένεια της πλάγιας μυατροφικής σκλήρυνσης (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) και της μετωποκροταφικής άνοιας (frontotemporal dementia, FTD), ενώ ενίοτε μπορεί να οδηγήσει σε κλινική εικόνα συνδρόμων προσομοιάζοντων με χορεία του Huntington (HD-like), παρκινσονικών συνδρόμων και άνοιας τύπου Alzheimer. Στην παρούσα εργασία γίνεται αναφορά τόσο στα γενετικά στοιχεία του γονιδίου *C9ORF72*, στον τρόπο ανίχνευσης της μεταλλαγής και στη γενετική συμβουλευτική που θα πρέπει να παρέχεται, όσο και στα ιδιαίτερα κλινικά χαρακτηριστικά της μεταλλαγής και στη συχνότητα εμφάνισής της ανά νόσημα στην Ελλάδα και διεθνώς. Στη μελέτη παρέχονται πληροφορίες σχετικά με τη συμμετοχή του γονιδίου *C9ORF72* στην κλινική εικόνα Ελλήνων ασθενών με άνοια και κινητικά νευροεκφυλιστικά νοσήματα, από μελέτες που εκπονήθηκαν στη Μονάδα Γενετικής του Νευρικού Συστήματος του «Αιγινήτειου» Νοσοκομείου και πραγματοποιείται σύγκρισή τους με τα στοιχεία άλλων διεθνών μελετών. Σύμφωνα με αυτά, φαίνεται ότι η συχνότητα της μεταλλαγής *C9ORF72* όσον αφορά σε ασθενείς με ALS, FTD, άνοια τύπου Alzheimer και σύνδρομο HD-like συμφωνεί με τις διεθνείς μελέτες. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συχνότητα της μεταλλαγής *C9ORF72* σε Έλληνες ασθενείς με ALS είναι από τις υψηλότερες στην Ευρώπη, καθώς και το γεγονός ότι η μεταλλαγή συνιστά τη συχνότερη γενετική αιτία των συνδρόμων HD-like στη χώρα μας.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η πρόοδος στη μελέτη του DNA τα τελευταία έτη έχει αποκαλύψει πλήθος νέων γονιδίων ως υπεύθυνα για νοσήματα, η αιτιοπαθογένεια των οποίων παρέμενε αδιευκρίνιστη. Ένα τέτοιο γονίδιο είναι το *C9ORF72*, το οποίο σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες συνδέεται με έναν σημαντικό αριθμό νευροεκφυλιστικών νοσημάτων. Πιο συγκεκριμένα, μια δυναμική μεταλλαγή (επέκταση του αριθμού επαναλήψεων του εξανουκλεοτιδίου GGGGCC) του γονιδίου *C9ORF72* φαίνεται να εμπλέκεται στην αιτιοπαθογένεια της πλάγιας μυατροφικής σκλήρυνσης (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) και της μετωποκροταφικής άνοιας (frontotemporal dementia, FTD) και μπορεί να οδηγήσει σε κλινική εικόνα συνδρόμων που προσομοιάζουν με χορεία του Huntington

(HD-like), παρκινσονικών συνδρόμων και άνοιας τύπου Alzheimer.

Στην παρούσα εργασία παρέχονται πληροφορίες για τη συμμετοχή του γονιδίου *C9ORF72* στην κλινική εικόνα Ελλήνων ασθενών με άνοια και κινητικά νευροεκφυλιστικά νοσήματα, από μελέτες που εκπονήθηκαν στη Μονάδα Γενετικής του Νευρικού Συστήματος του «Αιγινήτειου» Νοσοκομείου και γίνεται σύγκριση με τα στοιχεία άλλων διεθνών μελετών.

2. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *C9ORF72*

Το γονίδιο *C9ORF72* εδράζεται στον μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 9 (9p) στη θέση 21.2 (27,546,543-

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2017, 34(4):460-466
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2017, 34(4):460-466

Χ. Καρτάνου,
Γ. Καραδήμα,
Γ. Κούτσης,
Μ. Πάνας

Α΄ Νευρολογική Κλινική, Μονάδα
Γενετικής του Νευρικού Συστήματος,
«Αιγινήτειο» Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή,
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Αθήνα

The role of *C9ORF72*
hexanucleotide repeat expansion
in neurodegenerative diseases.
New data from the Greek
population

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Γονίδιο *C9ORF72*
Ελληνικός πληθυσμός
Νευροεκφυλιστικά νοσήματα

Υποβλήθηκε 5.10.2016
Εγκρίθηκε 14.10.2016

27,573,864 bp) και κωδικοποιεί 11 εξόνια, 3 μετάγραφα και 2 πρωτεϊνικές ισομορφές¹ (εικ. 1). Η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο αυτό εκφράζεται σε πολλές περιοχές του εγκεφάλου, στο κυτταρόπλασμα και στις συνάψεις των νευρώνων.² Όμως, παρά την υψηλή έκφρασή της στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) δεν έχει καθοριστεί με σαφήνεια ο βιολογικός της ρόλος.¹ Δεδομένα από τη δομή της υποδηλώνουν ότι έχει ακριβή ομολογία με τις πρωτεΐνες DENN, οι οποίες σχετίζονται με την κυστιδιακή μεταφορά.^{3,4}

Η μεταλλαγή που συνδέει αιτιοπαθογενετικά το γονίδιο C9ORF72 με νευροεκφυλιστικά νοσήματα είναι μια επανάληψη έξι νουκλεοτιδίων: GGGGCC, εντός της μη κωδικής περιοχής μεταξύ των εξονίων 1a και 1b (εικ. 1). Όπως έχει αποδειχθεί από διάφορες ερευνητικές ομάδες, τα φυσιολογικά άτομα διαθέτουν 2–23 επαναλήψεις, ενώ οι πάσχοντες >30.^{2,5} Ωστόσο, ορισμένες πρόσφατες μελέτες προτείνουν τον ουδό των 60 παθολογικών επαναλήψεων ως πλέον πιθανό.⁶ Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ο αριθμός των ενδιάμεσων επαναλήψεων (23–30), ο ρόλος των οποίων παραμένει αδιευκρίνιστος,¹ ανευρίσκεται σπάνια και στον γενικό πληθυσμό. Θα πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι σε σπάνιες περιπτώσεις έχει ανιχνευτεί σε άτομα του γενικού πληθυσμού και ο παθολογικός αριθμός επαναλήψεων (>30).¹

Οι επικρατέστεροι μηχανισμοί μέσω των οποίων το μεταλλαγμένο γονίδιο C9ORF72 προκαλεί παθολογικό φαινότυπο είναι (α) η μείωση της έκφρασης του γονιδίου (loss-of-function)^{2,5} και (β) η συσσώρευση τοξικών RNA συσσωματωμάτων^{2,5} και πρωτεϊνικών διπεπτιδίων^{7,8} εντός του κυττάρου (gain-of-function).

3. ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΗΣ ΤΟΥ C9ORF72

Τα νοσήματα που συνδέονται με την επέκταση του γονιδίου C9ORF72 χαρακτηρίζονται από αυτοσωμική επικρατητική κληρονομικότητα, παρουσιάζουν κλινική ετερογένεια και φαινότυπο μερικής ή ατελούς διεισδυτικότητας.¹ Το

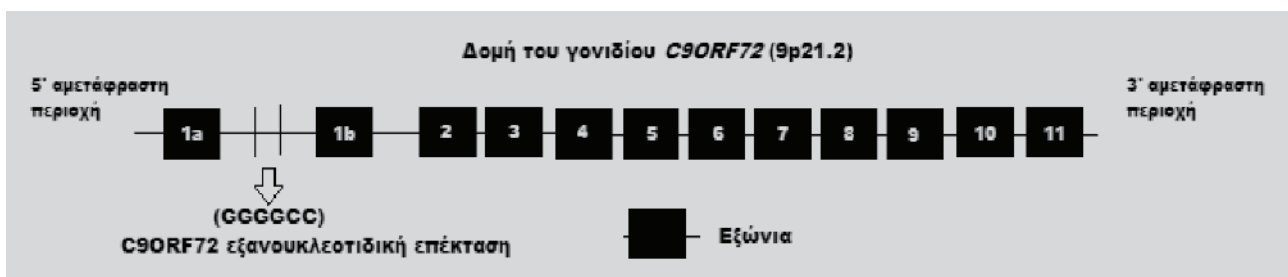
φαινόμενο της επίσπευσης, δηλαδή η αύξηση του αριθμού των επαναλήψεων από γενιά σε γενιά και η εμφάνιση της νόσου σε όλο και μικρότερη ηλικία, έχει παρατηρηθεί σε ορισμένες περιπτώσεις ασθενών με ALS και FTD,¹ σε μικρότερο όμως βαθμό σε σχέση με την επίσπευση που προκαλούν άλλες δυναμικές μεταλλαγές, όπως για παράδειγμα οι τρινουκλεοτιδικές επεκτάσεις στη μυοτονική δυστροφία τύπου 1 (DM1) ή στην αταξία του Friedreich (FR).⁶

Αρκετές μελέτες έχουν ασχοληθεί με τη συσχέτιση του αριθμού των G₄C₂ επαναλήψεων με τη βαρύτητα της νόσου. Στην ALS δεν φαίνεται να υπάρχει σαφής συσχέτιση.⁹ Αντίθετα, στην FTD έχει βρεθεί άμεση συσχέτιση της έκτασης της επανάληψης με την ηλικία έναρξης των συμπτωμάτων.¹⁰

Λόγω της κλινικής ετερογένειας που χαρακτηρίζει τα νοσήματα τα οποία συνδέονται με το γονίδιο C9ORF72, έχει μελετηθεί εκτενώς ο ρόλος σημαντικού αριθμού επιγενετικών παραγόντων ως τροποποιητικών στοιχείων της δράσης του γονιδίου.¹¹ Συνοψίζοντας τα ευρήματα των εν λόγω μελετών φαίνεται ότι (α) η διαμεμβρανική πρωτεΐνη TMEM106B ασκεί προστατευτική δράση στην FTD, (β) οι ενδιάμεσες επαναλήψεις του γονιδίου της ATXN2 καθιστούν τους φορείς του μεταλλαγμένου C9ORF72 περισσότερο επιρρεπείς στην εμφάνιση ALS και (γ) πολυμορφισμοί στα γονίδια UBAP1, PRNP, GRN, ELP3, APOE και UNC13A αποτελούν πιθανούς τροποποιητικούς παράγοντες της δράσης του γονιδίου C9ORF72.¹¹

4. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ – ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΗΣ ΤΟΥ C9ORF72 – ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ, ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ

Σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες γραμμές, η μεθοδολογία για τη μοριακή ανίχνευση της εξανουκλεοτιδικής επέκτασης του C9ORF72 περιλαμβάνει την εφαρμογή της μεθόδου της αλυσιδωτής αντίδρασης της DNA-πολυμεράσης (PCR) προσαρμοσμένης και σχεδιασμένης ώστε να ανιχνεύει μεγάλου αριθμού επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (repeat primed – PCR, RP-PCR). Τα προϊόντα



Εικόνα 1. Δομή του γονιδίου C9ORF72 (9p21.2).

της αντίδρασης αναλύονται σε αυτόματο γενετικό αναλυτή και αξιολογούνται με κατάλληλα λογισμικά προγράμματα.¹²

Όπως είναι γνωστό, ο τομέας της γενετικής συμβουλευτικής περιλαμβάνει τη διαδικασία ενημέρωσης των ασθενών και των οικογενειών τους σε σχέση με τη φύση, την κληρονομικότητα και τις επιπτώσεις των γενετικών διαταραχών, με σκοπό να βοηθηθούν τόσο οι ίδιοι οι ασθενείς όσο και οι συγγενείς τους προκειμένου να λάβουν τις καταλληλότερες γι' αυτούς αποφάσεις.¹³

Στην περίπτωση του γονιδίου *C9ORF72*, το οποίο, όπως προαναφέρθηκε, εμφανίζει αυτοσωμικό επικρατητικό τύπο κληρονομικότητας, κατά τη συνεδρία της γενετικής συμβουλευτικής θα πρέπει να διευκρινιστούν ο κίνδυνος κατά 50% κάθε τέκνου των απογόνων ενός ασθενούς να φέρει τη μεταλλαγή, η έλλειψη θεραπείας, η ατελής διεισδυτικότητα (κάποια άτομα που φέρουν τη μεταλλαγή θα αναπτύξουν παθολογικό φαινότυπο και κάποια άλλα όχι), η όψιμη έναρξη και η ετερογένεια των κλινικών συμπτωμάτων.

Προσυμπτωματικός έλεγχος συνιστάται να διενεργείται μόνο σε περίπτωση θετικού οικογενειακού ιστορικού για τη μεταλλαγή *C9ORF72*. Θα πρέπει να διενεργείται με προσοχή, καθώς λίγα είναι ακόμη γνωστά για τη διεισδυτικότητα, την επίσπευση και τον ρόλο των ενδιάμεσων επαναλήψεων του γονιδίου.¹³

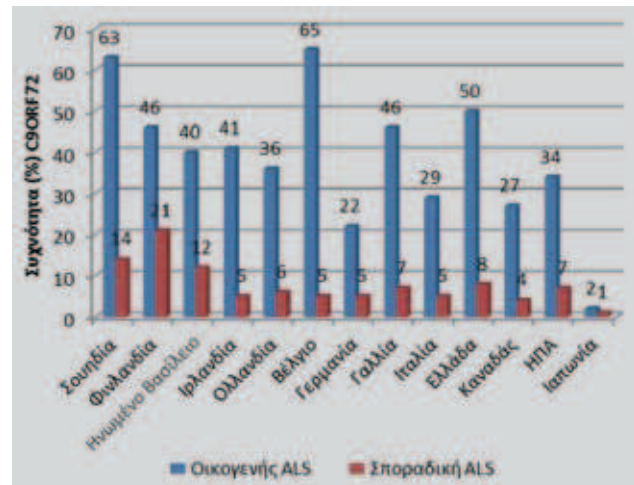
Προς το παρόν, η μοναδική θεραπευτική προσέγγιση που ακολουθείται σε ασθενείς με ALS και FTD, θετικούς για τη μεταλλαγή *C9ORF72*, είναι η αντιμετώπιση των συμπτωμάτων. Υπάρχουν πειραματικές δοκιμές σε προ-κλινικό επίπεδο που περιλαμβάνουν τη χρήση αντινοσηματικών (antisense) ολιγονουκλεοτιδίων, τα οποία στοχεύουν στη μείωση των τοξικών εστιών RNA, στη μελέτη ανθρώπινων ολοδύναμων βλαστικών κυττάρων και στην ανοσοθεραπεία.¹

5. ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΤΟΥ *C9ORF72*

5.1. Πλάγια μωατροφική σκλήρυνση

Η ALS αποτελεί μια σπάνια νευροεκφυλιστική νόσο με επίπτωση 1–2:100.000 και επιπολασμό 4–6:100.000. Σύμφωνα με το γενετικό προφίλ της, έχουν ανιχνευτεί μεταλλαγές υπεύθυνες για την εμφάνιση της ALS στα γονίδια *SOD1*, *FUS*, *PNF1*, *UBQLN2*, *HNRNPA1*, *HNRNPA2B1* και *TARDBP*.¹⁴

Η συχνότητα του γονιδίου *C9ORF72* στην ALS έχει διερευνηθεί σε πολλούς πληθυσμούς ανά τον κόσμο (εικ. 2). Στις χώρες της Ευρώπης, η συχνότητα ανευρίσκεται στο 39,3% περίπου για οικογενείς μορφές ALS και στο 9% για σποραδικές,¹⁵ με υψηλότερη αυτή της Φινλανδίας, η οποία ανέρχεται σε 46% και 21%, αντίστοιχα. Αξίζει να



Εικόνα 2. Συχνότητα της μεταλλαγής *C9ORF72* (%) σε οικογενείς και σε σποραδικές μορφές πλάγιας μωατροφικής σκλήρυνσης (ALS) ανά χώρα.

σημειωθεί ότι η συχνότητα της μεταλλαγής είναι σημαντικά χαμηλότερη σε πληθυσμούς από ασιατικές χώρες (3,4% για οικογενείς, περίπου 1% για σποραδικές μορφές ALS).¹⁶

Από μελέτη της Μονάδας μας φαίνεται ότι η συχνότητα του γονιδίου *C9ORF72* στους Έλληνες ασθενείς με ALS συμφωνεί με εκείνες των άλλων ευρωπαϊκών κρατών (50% των οικογενών και 8% των σποραδικών μορφών). Η εν λόγω συχνότητα καθιστά τη μεταλλαγή *C9ORF72* θεμελιώδη γενετική αιτία για την ALS και την ταυτοποίησή της σημαντικό παράγοντα στη διάγνωση της νόσου. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συγκεκριμένη συχνότητα είναι από τις υψηλότερες της Ευρώπης (με εξαίρεση την περίπτωση της Φινλανδίας), γεγονός που ίσως οφείλεται στη σχετική γενετική απομόνωση του ελληνικού πληθυσμού.¹⁷

Ασθενείς με ALS που φέρουν τη μεταλλαγή *C9ORF72* έχουν περισσότερες πιθανότητες (35,1%) να εμφανίσουν την προμηκική μορφή της ALS σε σχέση με εκείνους που δεν διαθέτουν τη μεταλλαγή (23,8%).¹ Επιπλέον, ένα ποσοστό 35% των ασθενών με ALS που φέρουν την επέκταση *C9ORF72* εμφανίζει συνυπάρχοντα συμπτώματα μετωποκροταφικής άνοιας ή έχει θετικό οικογενειακό ιστορικό για μετωποκροταφική άνοια.¹⁸ Τέλος, σε ασθενείς ALS θετικούς για την επέκταση του *C9ORF72* έχει παρατηρηθεί πρώιμη έναρξη και ταχύτερη εξέλιξη της νόσου, καθώς και εμφάνιση ψυχιατρικών συμπτωμάτων (παραισθήσεις και ψευδαισθήσεις).¹⁸

5.2. Μετωποκροταφική άνοια

Η FTD συχνά κάνει την εμφάνισή της στην ηλικία των 50 ετών και αποτελεί την κύρια αιτία άνοιας σε άτομα 50–65 ετών.¹⁹ Παρουσιάζει παγκόσμιο επιπολασμό περίπου 15–22

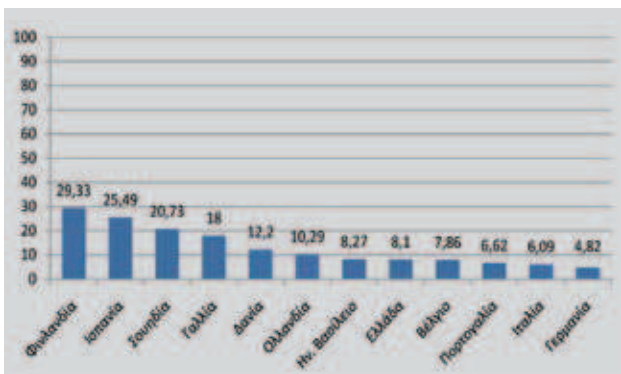
περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους.²⁰ Το 40–50% των περιπτώσεων FTD είναι οικογενούς μορφής και χαρακτηρίζονται από αυτοσωμικό επικρατητικό τύπο κληρονομικότητας.¹⁹ Υπολογίζεται ότι η μεταλλαγή του C9ORF72 είναι υπεύθυνη για το 18–24% των οικογενών περιπτώσεων FTD και για το 6–10% των σποραδικών μορφών FTD.²¹

Ο τύπος FTD που συνδέεται συχνότερα με τη μεταλλαγή είναι ο συμπεριφορικός (behavioral variant, bvFTD) (ποσοστό 50%).¹ Οι ασθενείς με αυτή τη μορφή FTD, εκτός από διαταραχές συμπεριφοράς, αλλοίωση προσωπικότητας, άρση αναστολών, απάθεια και επιτελική δυσλειτουργία, εμφανίζουν ψυχώσεις και πολύ συχνά παραισθήσεις και ψευδαισθήσεις.²⁰ Ακολουθεί σε συχνότητα ο τύπος με προοδευτική, μη ρέουσα αφασία (progressive non-fluent aphasia, PNFA) (ποσοστό 16,6%), ενώ ο τύπος με σημασιολογικού τύπου άνοια (semantic dementia, SD) πολύ σπάνια συνδέεται με τη μεταλλαγή C9ORF72.¹

Ως προς την ηλικία έναρξης των συμπτωμάτων έχει παρατηρηθεί ότι ασθενείς με FTD που φέρουν τη μεταλλαγή C9ORF72 αναπτύσσουν νωρίτερα τα συμπτώματα της νόσου (μέσος όρος: 55,3 έτη, εύρος: 42–69 έτη) σε σχέση με εκείνους που δεν τη διαθέτουν.⁶ Τέλος, έχει παρατηρηθεί ότι οι ασθενείς με FTD που φέρουν τη μεταλλαγή C9ORF72 χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένα νευροπαθολογικά ανατομικά ευρήματα. Τα εν λόγω ευρήματα περιλαμβάνουν πρωτεϊνικά έγκλειστα σε παρεγκεφαλίδα και ιππόκαμπο, τα οποία πολλές φορές συνδέονται με ατροφία ιπποκάμπου.¹

Μελέτη της Μονάδας μας έδειξε ότι το ποσοστό εμφάνισης της μεταλλαγής C9ORF72 σε Έλληνες ασθενείς με FTD ανέρχεται σε 8,1% (3 στους 37 ασθενείς).²³

Η σχετική συχνότητα δεν διαφέρει σημαντικά από τις αντίστοιχες άλλων μελετών, εκτός από αυτές της Φινλανδίας (29,33%) και της Ισπανίας (25,49%) (εικ. 3). Όσον αφορά στη Φινλανδία, η διαφορά αυτή θα μπορούσε να ερμηνευτεί



Εικόνα 3. Συχνότητα της μεταλλαγής C9ORF72 (%) στη μετωποκρατική άνοια (FTD), ανά χώρα.

μέσω της θεωρίας που υποστηρίζει ότι η μεταλλαγή έχει προέλθει από έναν και μοναδικό απλότυπο, χιλιάδες χρόνια πριν, που άρχισε από τη βόρεια Ευρώπη και εξαπλώθηκε.²⁴ Η εν λόγω υπόθεση δεν μπορεί να ερμηνεύσει, ωστόσο, τη στατιστικά σημαντική διαφορά των συχνοτήτων της μεταλλαγής στην Ισπανία.²³

5.3. Πλάγια μυατροφική σκλήρυνση με μετωποκρατική άνοια

Η πλάγια μυατροφική σκλήρυνση και η μετωποκρατική άνοια φαίνεται να είναι δύο ξεχωριστές νευροεκφυλιστικές οντότητες, όπου όμως η παρουσία TDP-43 στα κυτταροπλασματικά έγκλειστα των νευρώνων και των νευραξόνων τους και στη συνέχεια η ανακάλυψη του γονιδίου C9ORF72 υποδηλώνει ότι τις χαρακτηρίζει παρόμοιος μηχανισμός αιτιοπαθογένειας.¹ Το 26,9% των περιπτώσεων FTD εμφανίζει αργότερα ALS, ενώ >30% έχει συγγενείς προσβεβλημένους από ALS. Η μεταλλαγή του C9ORF72 έχει παρατηρηθεί στο 45% των ασθενών με διάγνωση FTD-ALS.²⁵ Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι ασθενείς με ALS-FTD που είναι θετικοί για τη μεταλλαγή C9ORF72 έχουν μεγαλύτερο προσδόκιμο ζωής και παρουσιάζουν πρώιμη έναρξη συμπτωμάτων αλλά βραδύτερη πορεία της νόσου και ατροφία θαλάμου.²⁶

5.4. Άνοια τύπου Alzheimer

Λόγω της κλινικής επικάλυψης μεταξύ της μετωποκρατικής άνοιας και της άνοιας τύπου Alzheimer, πολλοί ερευνητές υπέθεσαν ότι το γονίδιο C9ORF72 πιθανόν να συσχετίζεται και με την κλινική εικόνα της άνοιας τύπου Alzheimer. Σε μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου η επέκταση C9ORF72 δεν ανιχνεύτηκε σε κανέναν ασθενή με κλινική διάγνωση άνοιας τύπου Alzheimer,²⁷ αλλά και περιπτώσεις όπου ανιχνεύτηκε σε ποσοστό <1%.²⁸

Μελέτη της Μονάδας μας ανίχνευσε τη μεταλλαγή σε ποσοστό 2% των Ελλήνων ασθενών με άνοια τύπου Alzheimer (1 στους 49 ασθενείς). Αν και το δείγμα που ελέγχθηκε ήταν αρκετά μικρό, φαίνεται ότι η συχνότητα της μεταλλαγής C9ORF72 συμφωνεί με τις προηγούμενες μελέτες και ότι είναι αρκετά χαμηλότερη από τη συχνότητα της ίδιας μεταλλαγής στην ALS και στην FTD.²³

Η ύπαρξη της παθολογικής μεταλλαγής σε ασθενείς με κλινική εικόνα AD παραπέμπει σε πιθανή αιτιοπαθογενετική συσχέτιση της επέκτασης C9ORF72 με την κλινική εικόνα. Όμως, για να επιβεβαιωθεί το εν λόγω γεγονός είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθούν περισσότερες μελέτες και σε μεγαλύτερους αριθμούς ασθενών.

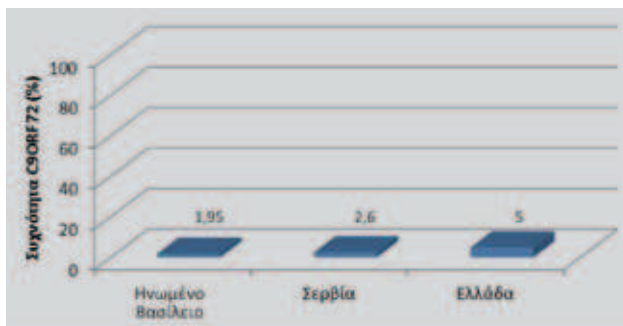
5.5. Παρκινσονικά σύνδρομα

Δεδομένης της μεγάλης κλινικής ετερογένειας που χαρακτηρίζει τη μεταλλαγή C9ORF72, έχει γίνει προσπάθεια υπολογισμού της συχνότητάς της σε διάφορους πληθυσμούς παρκινσονικών συνδρόμων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτών των μελετών, η παθολογική μεταλλαγή του C9ORF72 φαίνεται να ανευρίσκεται σπάνια (0,06%)²⁹ έως καθόλου³⁰ στα παρκινσονικά σύνδρομα.³¹ Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί ότι τα άτομα με παρκινσονισμό φέρουν σε στατιστικώς σημαντικά υψηλότερο ποσοστό τον ενδιάμεσο αριθμό των επαναλήψεων του C9ORF72 (23–30) ($p=0,003$), γεγονός που καθιστά την επανάληψη C9ORF72 παράγοντα αυξημένου κινδύνου εμφάνισης των παρκινσονικών συνδρόμων.³² Απομένει να διεξαχθούν περισσότερες μελέτες ώστε να διαλευκανθεί ο ρόλος της μεταλλαγής στην αιτιοπαθογένεια των συνδρόμων με παρκινσονισμό.

5.6. Σύνδρομα HD-like

Η νόσος του Huntington ή, αλλιώς, χορεία του Huntington (HD) είναι μια αυτοσωμική επικρατής νευροεκφυλιστική διαταραχή, για την οποία υπεύθυνη είναι μια τρινουκλεοτιδική επανάληψη (CAG) στο γονίδιο *IT 15* του χρωμοσώματος 4. Χαρακτηρίζεται κλινικά από την τριάδα: χορεία, άνοια και ψυχιατρικές διαταραχές. Στις περιπτώσεις που οι ασθενείς εμφανίζουν κλινική εικόνα HD χωρίς να διαθέτουν τη συγκεκριμένη επανάληψη, τότε χρησιμοποιείται ο όρος σύνδρομα HD-like ή HD-rhencopies.³³ Οι περιπτώσεις HD-like είναι εξαιρετικά σπάνιες (συχνότητα εμφάνισης 2,8% επί των ασθενών με ισχυρή υποψία HD).³⁴

Οι μελέτες οι οποίες έχουν επικεντρωθεί στην ταυτοποίηση της μεταλλαγής C9ORF72 σε ασθενείς με σύνδρομα HD-like είναι ελάχιστες (εικ. 4). Η πρώτη μελέτη, που διεξήχθη στον πληθυσμό του Ηνωμένου Βασιλείου, έδειξε ότι η μεταλλαγή C9ORF72 αποτελεί τη συχνότερη γενετική αιτία των συνδρόμων HD-like (1,95%),³⁴ ενώ λίγο αργότερα μελετήθηκε ο πληθυσμός της Σερβίας και υπολογίστηκε ότι το αντίστοιχο ποσοστό ανέρχεται στο 2,6%.³⁵



Εικόνα 4. Συχνότητα της μεταλλαγής C9ORF72 σε σύνδρομα HD-like ανά χώρα.

Σχεδόν παράλληλα, σε μελέτη της Μονάδας μας, η μεταλλαγή C9ORF72 ταυτοποιήθηκε σε ποσοστό 5% σε Έλληνες ασθενείς και έτσι αποδείχθηκε ότι αποτελεί τη συχνότερη γενετική αιτία των συνδρόμων HD-like στη χώρα μας. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν 40 ασθενείς με σύνδρομα HD-like, από τους οποίους δύο βρέθηκαν θετικοί για την παθολογική επανάληψη C9ORF72, αποτέλεσμα το οποίο συμφωνεί με τις μελέτες που αναφέρθηκαν προηγουμένως και επιβεβαιώνει τα ευρήματά τους.³⁶

5.7. Άλλα νευροεκφυλιστικά νοσήματα

Τα τελευταία έτη, κάποιες μελέτες έχουν ασχοληθεί με την εμπλοκή της μεταλλαγής C9ORF72 στην κλινική εικόνα νοσημάτων, όπως η νόσος Creutzfeldt-Jakob, τα φλοιοβασικά και τα αταξικά σύνδρομα.³⁷ Ο μικρός αριθμός των μελετών, όμως, δεν παρέχει επαρκή δεδομένα για τη σύνδεση της μεταλλαγής με την αιτιοπαθογένεια των ανωτέρω νοσημάτων.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Η σύνδεση του γονιδίου C9ORF72 και των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων είναι σήμερα πιστοποιημένη από πλήθος ερευνητικών μελετών. Για κάποια από αυτά, όπως για τις νόσους ALS, FTD, ALS-FTD, καθώς και για τα σύνδρομα HD-like, ο γενετικός έλεγχος για τη μεταλλαγή C9ORF72 έχει πλέον καθιερωθεί.

Από μελέτες της Μονάδας μας φαίνεται ότι η συχνότητα της μεταλλαγής C9ORF72 συμφωνεί με τις διεθνείς μελέτες όσον αφορά σε ασθενείς με ALS, FTD, άνοια τύπου Alzheimer και σύνδρομα HD-like. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συχνότητα της μεταλλαγής C9ORF72 σε Έλληνες ασθενείς με ALS είναι από τις υψηλότερες στην Ευρώπη, καθώς και το γεγονός ότι η μεταλλαγή αποτελεί τη συχνότερη γενετική αιτία των συνδρόμων HD-like στη χώρα μας.

Η έγκαιρη και ακριβής ανίχνευση της μεταλλαγής του γονιδίου C9ORF72 αποτελεί σήμερα πολύτιμο εργαλείο για τον κλινικό ιατρό που έρχεται αντιμέτωπος με τα εν λόγω νοσήματα, παρέχοντας τη δυνατότητα για διάγνωση, πρόγνωση και γενετική συμβουλευτική των ασθενών και των οικογενειών τους. Μεγάλη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στην παροχή γενετικής συμβουλής λόγω της μερικής διεισδυτικότητας και της κλινικής ετερογένειας αλλά και εξ αιτίας της παρουσίας αδιευκρίνιστων ακόμη σημείων σχετικών τόσο με τον ρόλο του ενδιάμεσου αριθμού επαναλήψεων όσο και με τον ουδό των παθολογικών επαναλήψεων της μεταλλαγής C9ORF72.

Μελλοντικές μελέτες αναμένεται να συνδράμουν περαιτέρω στην ακριβέστερη διάγνωση και στη θεραπευτική προσέγγιση των νοσημάτων με μεταλλαγή C9ORF72.

ABSTRACT

**The role of C9ORF72 hexanucleotide repeat expansion in neurodegenerative diseases.
New data from the Greek population**

C. KARTANOU, G. KARADIMA, G. KOUTSIS, M. PANAS

First Department of Neurology, Neurogenetics Unit, "Eginition" Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2017, 34(4):460–466

The *C9ORF72* gene encodes for a protein which is expressed at a high rate in the central nervous system, but whose role has not yet been clarified. In recent studies, the *C9ORF72* gene has been linked to a significant number of neurodegenerative diseases. In particular, a dynamic mutation (GGGGCC hexanucleotide repeat expansion in the *C9ORF72* gene) appears to be involved in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontotemporal dementia (FTD) and can also lead to Huntington's disease (HD)-like syndromes, Parkinsonian syndromes and Alzheimer's type dementia. This is a report of the genetic characteristics of the *C9ORF72* gene, laboratory detection of the mutation, relevant genetic counseling, and specific clinical features of the mutation and the incidence of each disease in Greece and internationally. Information is provided here on the *C9ORF72* gene involvement in the clinical presentation of Greek patients with dementia and motor neurodegenerative diseases studied at the Neurogenetics Unit of the "Eginition" Hospital, in comparison with data from other studies. It appears that the frequency of the *C9ORF72* mutation in this Greek population with regard to ALS, FTD, Alzheimer's type dementia and HD-like conditions is in line with that reported in international studies. It is of note that the frequency of the *C9ORF72* mutation in Greek ALS patients is among the highest in Europe and that this mutation is the most common genetic cause of HD-like syndromes in Greece.

Key words: *C9ORF72* gene, Greek population, Neurodegenerative diseases

Βιβλιογραφία

- LIU Y, YU JT, ZONG Y, ZHOU J, TAN L. *C9ORF72* mutations in neurodegenerative diseases. *Mol Neurobiol* 2014, 49:386–398
- DeJESUS-HERNANDEZ M, MACKENZIE IR, BOEVE BF, BOXER AL, BAKER M, RUTHERFORD NJ ET AL. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of *C9ORF72* causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* 2011, 72:245–256
- LEVINE TP, DANIELS RD, GATTA AT, WONG LH, HAYES MJ. The product of *C9orf72*, a gene strongly implicated in neurodegeneration, is structurally related to DENN Rab-GEFs. *Bioinformatics* 2013, 29:499–503
- ZHANG D, IYER LM, HE F, ARAVIND L. Discovery of novel DENN proteins: Implications for the evolution of eukaryotic intracellular membrane structures and human disease. *Front Genet* 2012, 3:283
- RENTON AE, MAJOUNIE E, WAITE A, SIMÓN-SÁNCHEZ J, ROLLINSON S, GIBBS JR ET AL. A hexanucleotide repeat expansion in is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* 2011, 72:257–268
- GIJSELINCK I, VAN LANGENHOVE T, VAN DER ZEE J, SLEEGERS K, PHILTJENS S, KLEINBERGER G ET AL. A *C9orf72* promoter repeat expansion in a Flanders-Belgian cohort with disorders of the frontotemporal lobar degeneration-amyotrophic lateral sclerosis spectrum: A gene identification study. *Lancet Neurol* 2012, 11:54–65
- ASH PE, BIENIEK KF, GENDRON TF, CAULFIELD T, LIN WL, DeJESUS-HERNANDEZ M ET AL. Unconventional translation of *C9ORF72* GGGGCC expansion generates insoluble polypeptides specific to c9FTD/ALS. *Neuron* 2013, 77:639–646
- MORI K, WENG SM, ARZBERGERT T, MAY S, RENTZSCH K, KREMMER E ET AL. The *C9orf72* GGGGCC repeat is translated into aggregating dipeptide-repeat proteins in FTL/ALS. *Science* 2013, 339:1335–1338
- RUTHERFORD NJ, HECKMAN MJ, DeJESUS-HERNANDEZ M, BAKER MC, SOTO-ORTOLAZA AI, RAYAPROLU S ET AL. Length of normal alleles of *C9ORF72* GGGGCC repeat do not influence disease phenotype. *Neurobiol Aging* 2012, 33:2950.e5–e7
- COOPER-KNOCK J, SHAW PJ, KIRBY J. The widening spectrum of *C9ORF72*-related disease; genotype/phenotype correlations and potential modifiers of clinical phenotype. *Acta Neuropathol* 2014, 127:333–345
- VAN BLITTERSWIJK M, MULLEN B, WOJTAS A, HECKMAN MG, DIEHL NN, BAKER MC ET AL. Genetic modifiers in carriers of repeat expansions in the *C9ORF72* gene. *Mol Neurodegener* 2014, 9:38
- AKIMOTO C, VOLK AE, VAN BLITTERSWIJK M, VAN DEN BROECK M, LEBLOND CS, LUMBROSO S ET AL. A blinded international study on the reliability of genetic testing for GGGGCC-repeat expansions in *C9orf72* reveals marked differences in results among 14 laboratories. *J Med Genet* 2014, 51:419–424

13. FONG JC, KARYDAS AM, GOLDMAN JS. Genetic counseling for FTD/ALS caused by the C9ORF72 hexanucleotide expansion. *Alzheimers Res Ther* 2012, 4:27
14. CABALLERO-HERNANDEZ D, TOSCANO MG, CEJUDO-GUILLEN M, GARCIA-MARTIN ML, LOPEZ S, FRANCO JM ET AL. The “omics” of amyotrophic lateral sclerosis. *Trends Mol Med* 2016, 22:53–67
15. VAN BLITTERSWIJK M, DeJESUS-HERNANDEZ M, RADEMAKERS R. How do C9ORF72 repeat expansions cause amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: Can we learn from other noncoding repeat expansion disorders? *Curr Opin Neurol* 2012, 25:689–700
16. KONNO T, SHIGA A, TSUJINO A, SUGAI A, KATO T, KANAI K ET AL. Japanese amyotrophic lateral sclerosis patients with GGGGCC hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013, 84:398–401
17. MOK KY, KOUTSIS G, SCHOTTLAENDER LV, POLKE J, PANAS M, HOULDEN H. High frequency of the expanded C9ORF72 hexanucleotide repeat in familial and sporadic Greek ALS patients. *Neurobiol Aging* 2012, 33:1851.e1–e5
18. COOPER-KNOCK J, HEWITT C, HIGHLEY JR, BROCKINGTON A, MILANO A, MAN S ET AL. Clinico-pathological features in amyotrophic lateral sclerosis with expansions in C9ORF72. *Brain* 2012, 135:751–764
19. SEELAAR H, ROHRER JD, PIJNENBURG YA, FOX NC, VAN SWIETEN JC. Clinical, genetic and pathological heterogeneity of frontotemporal dementia: A review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011, 82:476–486
20. SOUZA PV, PINTO WB, OLIVEIRA AS. C9orf72-related disorders: Expanding the clinical and genetic spectrum of neurodegenerative diseases. *Arq Neuropsiquiatr* 2015, 73:246–256
21. VAN DER ZEE J, GIJSELINCK I, DILLEN L, VAN LANGENHOVE T, THEUNS J, ENGELBORGH S ET AL. A pan-European study of the C9orf72 repeat associated with FTLD: Geographic prevalence, genomic instability, and intermediate repeats. *Hum Mutat* 2013, 34:363–373
22. MAJOUNIE E, RENTON AE, MOK K, DOPPER EG, WAITE A, ROLLINSON S ET AL. Frequency of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: A cross-sectional study. *Lancet Neurol* 2012, 11:323–330
23. KAPTANOY X. Μελέτη του γονιδίου C9ORF72 σε Έλληνες ασθενείς με άνοια νευροεκφυλιστικής αρχής. Διπλωματική εργασία. Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδικεύσεως: Εφαρμογές της Βιολογίας στην Ιατρική. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 2014
24. MOK K, TRAYNOR BJ, SCHYMICK J, TIENARI PJ, LAAKSOVIRTA H, PEURALINNA T ET AL. Chromosome 9 ALS and FTD locus is probably derived from a single founder. *Neurobiol Aging* 2012, 33:209.e3–e8
25. RUTHERFORD NJ, DeJESUS-HERNANDEZ M, BAKER MC, KRISTON TB, BROWN PE, LOMEN-HOERTH C ET AL. C9ORF72 hexanucleotide repeat expansions in patients with ALS from the Coriell Cell Repository. *Neurology* 2012, 79:482–483
26. SHA SJ, TAKADA LT, RANKIN KP, YOKOYAMA JS, RUTHERFORD NJ, FONG JC ET AL. Frontotemporal dementia due to C9ORF72 mutations: Clinical and imaging features. *Neurology* 2012, 79:1002–1011
27. ROLLINSON S, HALLIWELL N, YOUNG K, CALLISTER JB, TOULSON G, GIBBONS L ET AL. Analysis of the hexanucleotide repeat in C9ORF72 in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2012, 33:1845.e5–e6
28. HARMS M, BENITEZ BA, CAIRNS N, COOPER B, COOPER P, MAYO K ET AL. C9orf72 hexanucleotide repeat expansions in clinical Alzheimer disease. *JAMA Neurol* 2013, 70:736–741
29. THEUNS J, VERSTRAETEN A, SLEEGERS K, WAUTERS E, GIJSELINCK I, SMOLDERS S ET AL. Global investigation and meta-analysis of the C9orf72 (G4C2)_n repeat in Parkinson disease. *Neurology* 2014, 83:1906–1913
30. JIAO B, GUO JF, WANG YQ, YAN XX, ZHOU L, LIU XY ET AL. C9orf72 mutation is rare in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and essential tremor in China. *Front Cell Neurosci* 2013, 7:164
31. YEH TH, LAI SC, WENG YH, KUO HC, WU-CHOU YH, HUANG CL ET AL. Screening for C9orf72 repeat expansions in parkinsonian syndromes. *Neurobiol Aging* 2013, 34:1311.e3–e4
32. NUYTEMANS K, BADEMCI G, KOHLI MM, BEECHAM GW, WANG L, YOUNG JI ET AL. C9ORF72 intermediate repeat copies are a significant risk factor for Parkinson disease. *Ann Hum Genet* 2013, 77:351–363
33. WILD EJ, TABRIZI SJ. Huntington's disease phenocopy syndromes. *Curr Opin Neurol* 2007, 20:681–687
34. HENSMAN MOSS DJ, POULTER M, BECK J, HEHIR J, POLKE JM, CAMPBELL T ET AL. C9orf72 expansions are the most common genetic cause of Huntington disease phenocopies. *Neurology* 2014, 82:292–299
35. KOSTIĆ VS, DOBRIČIĆ V, STANKOVIĆ I, RALIĆ V, STEFANOVA E. C9orf72 expansion as a possible genetic cause of Huntington disease phenocopy syndrome. *J Neurol* 2014, 261:1917–1921
36. KOUTSIS G, KARADIMA G, KARTANOY C, KLADI A, PANAS M. C9ORF72 hexanucleotide repeat expansions are a frequent cause of Huntington disease phenocopies in the Greek population. *Neurobiol Aging* 2015, 36:547.e13–e16
37. LINDQUIST SG, DUNO M, BATBAYLI M, PUSCHMANN A, BRAENDGAARD H, MARDOSIENE S ET AL. Corticobasal and ataxia syndromes widen the spectrum of C9ORF72 hexanucleotide expansion disease. *Clin Genet* 2013, 83:279–283

Corresponding author:

C. Kartanou, 4 Deinostratou street, GR-117 43 Athens, Greece
e-mail: chrisoulakart@hotmail.com