

VU Research Portal

Creatine Deficiency Syndromes: A Clinical, Molecular and Functional Approach

Ndika, J.D.T.

2014

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Ndika, J. D. T. (2014). *Creatine Deficiency Syndromes: A Clinical, Molecular and Functional Approach*.

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 ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Creatine deficiëntie syndromen (CDS) zijn aangeboren stofwisselingsziekten met als biochemisch kenmerk, de afwezigheid van creatine/fosfocreatine in de hersenen. Klinische manifestaties worden gekenmerkt door verstandelijke beperking, vertraagde spraak- en taalontwikkeling, autistisch gedrag en epilepsie. Er wordt geschat dat de endogene creatine synthese (door arginine:glycine amidinotransferase – AGAT en guanidinoacetaat methyltransferase – GAMT) voorziet in ongeveer de helft van onze dagelijkse behoefte aan creatine. De andere helft wordt verkregen uit de voeding. De creatine transporter (CT1 wordt door het *SLC6A8* gen gecodeerd) is verantwoordelijk voor de opname van creatine in de cellen. Genetische afwijkingen in ofwel *AGAT*, *GAMT* of *SLC6A8* veroorzaken CDS. Creatine suppletie heeft opmerkelijke successen opgeleverd in de behandeling van individuen met een AGAT - of GAMT deficiëntie. Creatine suppletie is tot nu toe niet effectief bewezen in de behandeling van patiënten met een *SLC6A8* deficiëntie.

De afwezigheid van klinische verschijnselen bij pre-symptomatische individuen met een AGAT - of GAMT deficiënte waarbij de behandeling vroeg in het leven werd gestart, illustreert het belang van vroegtijdige diagnose en behandeling. Het is dan ook belangrijk om bekendheid met deze aandoening te vergroten. Hiertoe hebben wij het klinische fenotype en de lange termijn behandelingsresultaten beschreven van een patiënt aangedaan met AGAT deficiëntie (hoofdstuk 2), als ook een overzicht gemaakt van de tot dan toe in de literatuur beschreven AGAT deficiënte patiënten. GAMT deficiëntie was al wel grondig beschreven, hoewel studies naar missense mutaties in het *GAMT* gen nog ontbraken. Aangezien missense mutaties meestal moeilijk te interpreteren zijn, hebben wij een functionele studie opgezet voor het karakteriseren van dit type mutaties. We onderzochten de tot nu toe bekende missense mutaties, inclusief nieuwe missense mutaties gevonden in 13 *GAMT* patiënten (hoofdstuk 3). Wij hebben ook een online database ontwikkeld voor zowel AGAT (www.lovd.nl/GATM) (hoofdstuk 2) als GAMT (www.lovd.nl/GAMT) (hoofdstuk 3) deficiëntie. Deze databases bevatten informatie over de pathogeniciteit van de varianten en de functionele analyses van diverse varianten. Dit initiatief richt zich vooral op de verstrekking van informatie aan diagnostici en klinici, die op zoek zijn naar de bevestiging/uitsluiting van een diagnose.

De behandeling van AGAT en GAMT deficiëntie is afhankelijk van functioneel creatine transport. Door het onderzoek naar de *SLC6A8* genregulatie, kunnen deze behandelingsmethoden mogelijk worden verbeterd. Daarom onderzochten wij de mogelijke aanwezigheid van alternatieve splice varianten van de creatine transporter. Wij hebben twee splice varianten geïdentificeerd met een vergelijkbaar expressie profiel als dat van het creatine transporter gen. Door middel van overexpressie experimenten is onderzocht of deze splice varianten in staat zijn creatine transport te reguleren. Inderdaad bleek overexpressie van deze varianten CT1 expressie positief te reguleren (hoofdstuk 4).

Bij patiënten met een (X-gebonden) verstandelijke beperking is de kans op een defect in de creatine transporter aanwezig. Bij deze patiënten kan DNA analyse van het *SLC6A8* gen worden ingezet. Echter, bij deze screening is geen rekening gehouden met de nog onbekende promotor regio van het *SLC6A8* gen. Uit diverse whole genome sequencing projecten is gebleken dat ziekte veroorzakende varianten ook gevonden kunnen worden binnen niet-coderende gebieden, waardoor wij de promotor van het *SLC6A8* gen als ook dat van het *SLC6A8* pseudogen op chromosoom 16 (*SLC6A10P*) graag wilde identificeren (hoofdstuk 5). In tegenstelling tot *SLC6A8*, is de expressie van het *SLC6A10P* pseudogen alleen gerapporteerd in de hersenen en de testis. Vervolgens hebben wij zowel de promotor regio van het pseudogen als van *SLC6A8* gekloneerd en onderzocht op het transcriptie potentiaal. Verassend genoeg bleek ten opzichte van de *SLC6A8* promotor het transcriptie potentiaal van de *SLC6A8P* promotor in verschillende celtypen hoger te liggen dan dat van *SLC6A8* (hoofdstuk 5).

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Tot nu toe zijn pogingen voor de behandeling van patiënten met een SLC6A8 deficiëntie nog niet succesvol gebleken. Door een beter inzicht te verkrijgen in de moleculaire pathofysiologie van creatine deficiëntie, kunnen alternatieve behandelingsstrategieën worden ontwikkeld. Voor verdere verbetering van onze kennis over de achtergrond van creatine deficiëntie pathways is er een differentieel genome-wide RNA-expressie experiment uitgevoerd in SLC6A8 deficiënte fibroblasten. In vergelijking met controle fibroblasten, bleken in fibroblasten van verschillende patiënten diverse genen extracellulaire matrix betrokken. Ook genen die coderen voor sommige synaptische eiwitten bleken differentieel tot expressie te komen in fibroblasten van patiënten (hoofdstuk 6).