

## **Project title: C9ORF72 gene methylation as early prognostic factor in Swedish FTD/ALS**

Applicant: Jose Miguel Laffita-Mesa, PhD, Lab Manager at Caroline Graff Karolinska Institutet.

E-mail: [jose.laffita@ki.se](mailto:jose.laffita@ki.se)

### Summary

Mutation in the c9orf72 is an important cause for Frontotemporal dementia (FTD) in Sweden. There is not effective treatment for c9FTD and substantial efforts are put in the search for early biomarkers.

The covalent addition of methyl group (CH<sub>3</sub>) to the Cytosine and Guanine (CG) DNA bases act as biological switch activating or silencing gene expression. The c9orf72 mutation have high content of CG and therefore the methylation might be a neuroprotective factor, but very few significant correlations are shown. Studies about the influence of DNA methylation on the phenotype in Swedish patients with c9orf72 are scanty.

We aimed at assessing the role of c9orf72 gene methylation as prognostic marker in c9orf72 mutation carriers. We will combine longitudinal studies, neuropathological, and molecular data for the generation of prognostic models in Swedish c9FTD. Our investigation is divided in two main stages: 1) Gene methylation in asymptomatic c9orf72 carriers and 2) Pathogenic mechanisms and c9orf72 gene methylation. We will combine longitudinal studies, neuropathological, and molecular data for the generation of prognostic models in Swedish c9FTD, which will enable for both therapeutically approaches and improvement of presymptomatic diagnosis. The generation of predictive models for the disease prognosis will be of lot help for the rationale stratification for clinical trials, the identification of therapeutic targets, the decision making when treatment have to be done and the improving of presymptomatic diagnosis.

We already developed set of very sensitive and specific molecular assays to quantifying epigenetic DNA methylation of the c9orf72 gene promoter (unpublished data). The methods detected broader range of DNA methylation than previously methods (60% vs 30%). Interestingly, asymptomatic C9-ALS patients showed the highest methylation level suggesting protective effect of the DNA methylation acting since early stages of the neurodegenerative process. However, more data are necessary to validate the prognostic effect of c9orf72 gene methylation in c9-ALS but also in c9FTD.

## Projekttitel: C9ORF72-genmetylering som tidig prognostisk faktor i svenska FTD / ALS

Sökande: Jose Miguel Laffita-Mesa, PhD, Lab Manager på Caroline Graff Karolinska Institutet.  
E-post: jose.laffita@ki.se

### Sammanfattning

Mutation i genen *c9orf72* är en viktig orsak till frontotemporal demens (FTD) i Sverige. Det finns ingen effektiv behandling mot FTD och stora ansträngningar görs i sökandet efter tidiga biomarkörer.

Två av byggstenarna i DNA, Cytosin (C) och Guanin (G), kan binda till och modifieras av metylgrupper (CH<sub>3</sub>), en typ av kolvätemolekyler. Metylgrupperna utgör en biologisk modifiering som kan aktivera eller tysta avläsningen och därmed genuttrycket av DNA. *C9orf72*-mutationen har högt innehåll av CG och man har föreslagit att metyleringen kan fungera neuroprotektivt, men det saknas ännu resultat som övertygande visar en skyddande effekt vid neurodegenerativa sjukdomar. Ett fåtal studier har utvärderat hur DNA-metylering påverkar den kliniska bilden (fenotypen) hos svenska patienter med mutationer i *c9orf72*. Syftet med studien är att bedöma rollen av *c9orf72*-genmetylering som prognostisk markör i *c9orf72*-mutationsbärare. Vi kommer att kombinera kliniska hälsodata från longitudinella studier samt neuropatologiska och molekylära data för generering av prognostiska modeller i svenska FTD-fall, med målsättningen att underlätta tidig diagnostik och utveckla redskap som kan användas i kliniska läkemedelsprövningar. Studien består av två delar: 1) Utvärdering av genmetylering i friska, asymptomatiska, *c9orf72*-bärare och 2) Utvärdering av hur patogena mekanismer påverkas av graden av *c9orf72*-genmetylering. Mer specifikt tror vi att generering av prediktiva modeller för sjukdomsprognosen kan vara till stor hjälp i utformning och design av kliniska prövningar, användas för identifiering av terapeutiska mål och beslut om inledande av läkemedelsbehandling samt användas som verktyg för att ställa tidig diagnos, ibland hos patienter som ännu inte utvecklat symtom.

Vi har tidigare utvecklat en uppsättning mycket känsliga och specifika molekylära analyser för att mäta graden av DNA-metylering i *c9orf72*-genpromotorn (opublicerad data). Dessa detekterade mer omfattande DNA-metylering än tidigare metoder (60% vs 30%) och kunde visa en hög metyleringsgrad hos friska mutationsbärare i en släkt med amyotrofisk lateral skleros (ALS) orsakad av mutation i *c9orf72*. Detta skulle kunna antyda att den höga metyleringsgraden ger en skyddande effekt, som försenar eller skyddar mot symtomgivande sjukdom. Mer data är emellertid nödvändiga för att validera den prognostiska effekten av *c9orf72*-genmetylering i FTD och även ALS orsakad av mutation i *c9orf72*.