

Nederlandse samenvatting

Vanaf de eerste beschrijving in 2001¹ van *SLC6A8* deficiëntie, is de kennis over deze aandoening in snelle mate toegenomen. Op dit moment zijn er meer dan 150 patiënten gediagnosticeerd. In totaal zijn er meer dan 80 pathogene mutaties (Hoofdstuk 5, Figuur 1) beschreven. In dit proefschrift wordt beschreven wat de ontwikkeling binnen de DNA analyse van het *SLC6A8* gen teweeg heeft gebracht, voor zowel de diagnostiek alsmede de kliniek.

In hoofdstukken 2.1 en 2.2 worden nieuw ontwikkelde methodes beschreven waarmee de pathogeniciteit van nieuw gevonden mutaties met een onbekend effect kunnen worden bepaald. Deze methodes kunnen onder andere goed worden ingezet wanneer er mutaties in grote patiënten cohorten zonder overduidelijk effect (intronische varianten, missense varianten of 1-2 aminozuren deleties) worden gevonden. Het is niet altijd mogelijk om aanvullend materiaal te verkrijgen om de diagnose te bevestigen via bijvoorbeeld een mRNA analyse, creatine/creatinine ratio in urine, of met behulp van een MRS van de hersenen. Om de pathogeniciteit te kunnen testen hebben wij eerst een methode ontwikkeld waarmee creatine opname kon worden bepaald in creatine transporter deficiënte fibroblasten. Hierop voortbordurend kon, met behulp van overexpressie-studies, het effect van varianten in *SLC6A8* op de creatine opname worden bepaald. Om dit te bereiken, werden varianten geïntroduceerd in *SLC6A8* door middel van site-directed mutagenesis. Na overexpressie in *SLC6A8* deficiënte primaire fibroblasten en incubatie met fysiologische en suprafysiologische creatine concentraties, geeft het niveau van creatine opname ten opzichte van normale fibroblasten de pathogeniciteit van de variant weer.

Synonieme varianten of varianten gelegen in het intron, zijn met de hierboven beschreven methodes niet te analyseren. In hoofdstuk 2.3 passen we een *in silico* methode toe om dergelijke varianten te analyseren. Na een eerste schifting kunnen zo kandidaat varianten worden geselecteerd om vervolg onderzoek mee te verrichten, bijvoorbeeld door mRNA of minigene analyse.

Een interessante diagnostische uitdaging wordt beschreven in hoofdstuk 3. Bij het analyseren van de sequentie data, verkregen uit het bestuderen van een groot Europese cohort, bleek het *SLC6A8* gen van één mannelijke patiënt een pathogene mutatie te bevatten. Deze mutatie, c.1059_1061delCTT; p.Phe354del was, zoals

verwacht, ook aanwezig bij zijn broer met een vergelijkbaar ziektebeeld. Geheel onverwacht bleek dit echter niet te detecteren te zijn in het DNA dat geïsoleerd was uit het bloed van zijn moeder. Om deze alsnog te kunnen opsporen is een methode ontwikkeld waarmee het mogelijk is om somatische mosaïcisme van slechts een paar procent te detecteren. Deze techniek is vooral belangrijk bij genetische consultatie voor families waarbij een mutatie *de novo* lijkt te zijn ontstaan.

Met behulp van de verscheidenheid aan beschikbare middelen om *SLC6A8* te bestuderen is in de loop van de jaren een groot aantal mutaties gevonden. Om een beter overzicht en inzicht te verkrijgen hebben we de data van alle patiënten waarbij middels DNA onderzoek in het VU Medisch Centrum de diagnose *SLC6A8* deficiëntie kon worden bevestigd geanalyseerd. Door middel van een uitgebreide vragenlijst, die werd ingevuld door artsen verspreid over vele centra, konden we ook klinische data van patiënten meenemen van de hele wereld includeren. Ook hebben we in de analyse, waar mogelijk, gepubliceerde data meegenomen. Deze studie, bestaande uit 101 mannelijke *SLC6A8* deficiëntie patiënten, leverde de eerste uitgebreide beschrijving op van de fenotype, genotype en biochemische indices van deze aandoening. Deze DNA data zijn ook opgenomen en beschikbaar gemaakt in een online LOVD database, die hierdoor wereldwijd toegankelijk zijn. Zo kan bij het vermoeden op *SLC6A8* deficiëntie het diagnostische proces sneller en handzamer worden en wordt er tegelijkertijd ook meer bewustzijn gecreëerd voor deze toch nog relatief onbekende aandoening.

1. Salomons GS, van Dooren SJ, Verhoeven NM, et al. X-linked creatine-transporter gene (*SLC6A8*) defect: a new creatine-deficiency syndrome. *Am J Hum Genet.* 2001;68(6):1497-500. doi:10.1086/320595.