

MISE AU POINT

GÉNÉTIQUE DU BDNF ET MALADIE D'ALZHEIMER

*#S.E. PODUSLO, *R. HUANG, *J. HUANG

*Medical College of Georgia, Institute of Molecular Medicine and Genetics, 1120 15th Street Augusta, GA 30912, USA. Tel : 1 706-721-0609 ; fax : 1 706-721-8727. e-mail :

spoduslo@mail.mcg.edu

Department of Neurology, Medical College of Georgia and VA Medical Center, Augusta, GA, USA.

Le BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) favorise la survie neuronale et module la mémoire dépendant de l'hippocampe. Des variants génétiques du gène codant pour le BDNF ont été proposés comme facteurs de risque pour la maladie d'Alzheimer. Les variants génétiques associés à la maladie les plus souvent cités sont les polymorphismes mono-nucléotidiques (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) Val66Met (rs6265) et C270T ; les résultats ont été controversés. Nos études ont montré que le diplotype de trois SNP (rs6265, rs11030104 et rs2049045) était hautement significatif chez les non-porteurs de l'apoE4 (rapport de côtes=2,734 ; p=0,0096). La connaissance du rôle des SNP dans l'épissage alternatif du transcrit présente un intérêt considérable.

Le cerveau construit des circuits neuronaux pendant le développement et module la cognition et les comportements complexes chez l'adulte par des mécanismes de plasticité synaptique. Les modifications se produisent uniquement sur les synapses présentant une activité accrue. Les neurotrophines, telles que le BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) régulent la plasticité synaptique dans de nombreux systèmes, y compris le cortex. Par exemple, le BDNF facilite et est requis pour la potentialisation à long terme (LTP) dans l'hippocampe, associée à l'apprentissage et aux comportements adaptatifs. De plus, l'activité neuronale peut influencer l'efficacité du BDNF, car sa réponse à une stimulation répétitive se produit après la stimulation à haute fréquence des neurones présynaptiques (pour une revue, voir ref. 1). La protéine de BDNF est contenue dans de grandes vésicules à corps dense aux extrémités synaptiques. La libération du BDNF est dépendante de l'activité et permet à celui-ci de se lier à des combinaisons de récepteur tyrosine kinase (trkB) de haute affinité et de récepteurs p75 de faible affinité. Le BDNF stimule les modifications du récepteur, change les signaux intracellulaires et altère les activités neuronales telles que les amplitudes des courants post-synaptiques au travers des récepteurs (par exemple, les récepteurs NMDA). Dans l'hippocampe, le BDNF est impliqué dans la mémoire épisodique verbale². Le BDNF peut également participer à la survie des neurones en situation de stress.

La protéine du BDNF est synthétisée sous la forme d'une protéine précurseur de plus grande taille, de 32 kDa (proBDNF), qui est N-glycosylée et glycosulfatée dans le pro-domaine. Le précurseur est ensuite clivé protéolytiquement sur la Thr⁵⁷ en BDNF mature de 14 kDa³. L'expression génique du BDNF est régulée par l'activité synaptique. Les ARNm du BDNF sont down régulés dans les régions corticales affectées dans la maladie d'Alzheimer⁴. Le gène codant pour le BDNF se situe sur le chromosome 11, 11p14. Un polymorphisme mono-nucléotidique de ce gène, constitué par la substitution d'une valine en méthionine (Val66Met), peut produire des altérations de la mémoire épiso-

FONDATION
IPSEN
POUR LA RECHERCHE
THÉRAPEUTIQUE

dique de l'hippocampe. On pense que la substitution par la méthionine affecte la circulation intracellulaire et la sécrétion de BDNF². La substitution par la méthionine conduisant à des altérations de la mémoire a été associée avec la pathologie clinique dans la maladie d'Alzheimer, ainsi qu'à des désordres neuropsychiatriques tels que les psychoses maniacodépressives et la dépression⁵. De plus, les sujets avec l'allèle Met présentent un volume de l'hippocampe plus petit que celui des contrôles disposant de l'allèle Val⁶.

Le polymorphisme Val66Met (rs6265) trouvé sur le codon 66 dans l'exon codant VIII a été analysé dans 21 études cas-témoin sur la maladie d'Alzheimer, de populations caucasienne, asiatique, africaine et hispanique, avec des résultats variés. La méta-analyse de toutes les études, comprenant plus de 5000 cas et plus de 5000 contrôles, a donné un Odds ratio de 1,05 (intervalle de confiance 95% : 0,96-1,14) pour l'association avec la maladie d'Alzheimer, qui atteint 1,1 (intervalle de confiance 95% : 1,01-1,19) chez les seuls Caucasiens (www.alzgene.org). Nos études cas-témoin sur la maladie d'Alzheimer ont donné une probabilité de 0,0956 pour le polymorphisme Val66Met, ce qui n'est pas significatif⁷.

Outre le SNP (ou polymorphisme mono-nucléotidique) fréquent Val66Met, il existe un autre polymorphisme courant, le C270T dans l'exon 5, qui n'est pas traduit, mais qui contribue à une catégorie de transcrite ARNm. Ce polymorphisme a été analysé dans 16 études cas-témoin sur la maladie d'Alzheimer, là encore avec des résultats variables. La méta-analyse de toutes les études, comprenant plus de 3500 cas et plus de 3500 contrôles a donné un odds ratio de risque de maladie d'Alzheimer de 1,09 (intervalle de confiance 95% : 0,81-1,45), et de 1 pour les seuls cas de Caucasiens (intervalle de confiance 95% : 0,7-1,42) (www.alzgene.org). Nos études sur le polymorphisme C270T ont aussi abouti à des résultats non significatifs avec une probabilité de 0,65⁷.

Le gène de BDNF est composé de huit exons, avec la région codante sur le dernier. Il existe deux transcrits, en raison de l'épissage alternatif. Il y a sept exons non codants pour le premier transcrite exprimé et 11 exons non codants pour le deuxième transcrite, qui pourrait être une région non codante de protéine⁸. Le transcrite de type I utilise un simple site accepteur d'épissage dans l'exon VIII, codant pour la protéine principale. Une des sept classes de transcrite peut être formée quand la transcription est initiée sur l'exon I, II, ... ou VII avec le site donneur épissé au site accepteur de l'exon codant principal VIII. Quatre produits de traduction prédits ont été identifiés jusqu'à maintenant⁸.

Dans notre étude, nous avons 220 patients atteints de maladie d'Alzheimer (155 femmes et 65 hommes, avec une moyenne d'âge de début de maladie de 71,0±8,0 ans) et 128 contrôles (75 femmes et 53 hommes, avec une moyenne d'âge d'enrôlement de 72,0±8,0 ans). En utilisant le projet HapMap (www.hapmap.org), il y avait 15 SNP s'étendant sur 59 kb dans le gène BDNF, de l'exon III à l'exon codant VIII. Les 15 SNP présentaient un déséquilibre de liaison et ils étaient situés dans un bloc haplotype. Onze SNP ont été sélectionnés pour être analysés, dont le C270T et le Val66Met (rs6265)⁷. Quatre SNP avaient des fréquences alléliques moindres, inférieures à 2% et ont été exclus de l'analyse ultérieure.

Les comparaisons des fréquences alléliques ou des fréquences de génotype entre les patients et les contrôles n'ont pas révélé de différences significatives. Quand les patients et les contrôles étaient séparés selon leur statut apoE4, les fréquences de génotype se sont avérées significativement différentes pour deux des SNP chez les non-porteurs de l'apoE4. C'est-à-dire que les SNP Val66Met (rs6265) et rs2049045 ont donné des valeurs p respectivement de 0,0327 et de 0,0226, chez les non-porteurs de l'apoE4, alors que la valeur p pour le rs11030104 était de 0,0534. Les valeurs p pour les porteurs de l'apoE4 et pour les autres SNP n'étaient pas significatives⁷.

Nous avons examiné les combinaisons de génotype des trois SNP (rs6265, rs11030104 et rs2049045) pour leur association avec la maladie d'Alzheimer. La combinaison hétérozygote de AG/CT/CG était significativement plus fréquente parmi les patients que parmi les contrôles (28,6% vs 17,97%). L'odds ratio était de 2,01 (p=0,0283) comparé aux génotypes homozygotes. La valeur p était même plus significative chez les non-porteurs de l'apoE4, avec un odds ratio de 2,57 (p=0,0160)⁷.

Les sept SNP que nous avons étudié étaient en déséquilibre de liaison et se situent dans un bloc haplotype. En comparant chaque haplotype avec les autres pour les cas d'Alzheimer par rapport aux contrôles, les haplotypes n'étaient pas significatifs. Cependant, quand les diplotypes des trois SNP (rs6265, rs11030104 et rs2049045) étaient comparés, le diplotype H1(GTC) / H2(ACG) avait un odds ratio de 2,374 (p=0,0096), comparé à tous les autres chez les non-porteurs de l'apoE4 (voir le tableau)⁷.

Tableau - Diplotypes SNP : rs6265/rs11030104/rs2049045

	Tous sujets		Porteurs apoE4		Non-porteurs apoE4	
	Alzheimer	Contrôles	Alzheimer	Contrôles	Alzheimer	Contrôles
H1H1	142(64,5)	94(73,4)	99(65,5)	22(70,9)	43(62,3)	72(74,2)
H1H2	63(28,6)	23(18,0)	40(26,5)	7(22,6)	23(33,3)	16(16,5)
H1Autre	10(4,6)	6(4,7)	8(5,3)	2(6,5)	2(2,9)	4(4,1)
H2H2	4(1,8)	5(3,9)	3(2,0)	0	1(1,5)	5(5,2)
AutreAutre	1(0,5)	0	1(0,7)	0	0	0
Total	220	128	151	31	69	97
H1H2 vs tous autres	p=0,0190*		p=0,6444		p=0,0096*	
	OR=2,040		OR=1,242		OR=2,734	
	Intervalle de confiance : 95%		Intervalle de confiance : 95%		Intervalle de confiance : 95%	
	1,124-3,7		0,494-3,123		1,277-5,852	

H1 : GTC

H2 : ACG

Résultats : n (%)

*p<0.05

OR= Odds ratio (rapport de côtes)

Ainsi, l'analyse du SNP Val66Met (rs6265) avec deux SNP adjacents (rs11030104 et

rs2049045) a montré que les génotypes hétérozygotes des trois SNP (les diplotypes) étaient associés de manière significative avec la maladie chez les non-porteurs de l'apoE4 dans notre échantillon. Les SNP significatifs dans notre étude ont été trouvés entre l'exon VIA et VII, alors que le rs6265 se situe dans la région codante de l'exon VIII. La distance est d'environ 14 308 pb. La connaissance du rôle des deux SNP dans l'épissage alternatif présente un intérêt considérable.

L'allèle Met du polymorphisme Val66Met du BDNF a été associé à une moindre performance de la mémoire épisodique². Les contrôles portant les génotypes Val/Met avaient de plus petits volumes d'hippocampe par analyse RMN^{6,9-11}. Les hétérodimères étaient formés dans des neurones cultivés exprimant les génotypes Val/Met avec une sécrétion altérée de BDNF¹². Le BDNF est le support des projections cholinergiques du pro-encéphale basal vers l'hippocampe, lesquelles sont considérablement réduites dans la maladie d'Alzheimer. La régulation à la baisse de la sécrétion de BDNF peut contribuer à la perte neuronale retrouvée dans la maladie d'Alzheimer.

Remerciements : nous remercions les familles du Texas et de Georgie pour leur participation active à la banque ADN. L'ADN a également été obtenu de la Banque nationale de cellules (National Cell Repository) pour la maladie d'Alzheimer. Cette recherche a été soutenue par un fonds de lancement de l'université de médecine de Georgie et par une subvention d'accord de coopération U24AG21886 de l'Institut national du vieillissement (National Institute of Aging) pour la Banque nationale de cellules.

Références

1. G. Nagappan, B. Lu: Activity-dependent modulation of the BDNF receptor TrkB: mechanisms and implications. *Trends in Neuroscience*, 2005, vol. 28, 464-471.
2. M.F. Egan, M. Kojima, J.H. Callicott, T.E. Goldberg, B.S. Kolachana, A. Bertolino, E. Zaitsev, B. Gold, D. Goldman, M. Dean, B. Lu, D.R. Weinberger: The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*, 2003, vol. 112, 257-269.
3. S.J. Mowla, H.F. Farhadi, S. Pareek, J.K. Atwal, S.J. Morris, N.G. Seidah, R.A. Murphy: Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, vol. 276, 12660-12666.
4. R.M. Holsinger, J. Schnarr, P. Henry, V.T. Castelo, M. Fahnstock: Quantitation of BDNF mRNA in human parietal cortex by competitive reverse transcription-polymerase chain reaction: decreased levels in Alzheimer's disease. *Brain Research Molecular Brain Research*, 2000, vol. 76, 347-354.
5. K.G. Bath, F.S. Lee: Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function. *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience*, 2006, vol.6, 79085.
6. L. Pezawas, B.A. Verchinski, V.S. Mattay, J.H. Callicott, B.S. Kolachana, R.E. Straub, M.F. Egan, A. Meyer-Lindenberg, D.R. Weinberger: The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology. *Journal of Neuroscience*, 2004, vol.24, 10099-10102.
7. R. Huang, J. Huang, H. Cathcart, S. Smith, S.E. Poduslo: Genetic variants in brain-derived neurotrophic factor associated with Alzheimer's disease. *Journal of Medical Genetics*, 2007, vol. 44, e66.
8. Q.-R. Liu, D. Walther, T. Drgon, O. Polesskaya, T.G. Lesnick, K.J. Strain, M. de Andrade, J.H. Bower, D.M. Maraganore, G.R. Uhl: Human brain derived neurotrophic factor (BDNF) genes, splicing patterns, and assessments of associations with substance abuse and Parkinson's disease. *American Journal of Medical Genetics*, 2005, vol. 134B, 92-103.
9. A.R. Hariri, T.E. Goldberg, V.S. Mattay, B.S. Kolachana, J.H. Callicott, M.F. Egan, D.R. Weinberger: Brain-derived neurotrophic factor val⁶⁶met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *Journal of Neuroscience*, 2003, vol. 23, 6690-6694.
10. P.R. Szeszko, R. Lipsky, C. Mentschel, D. Robinson, H. Gunduz-Bruce, S. Sevy, M. Ashtari, B. Napolitano, R.M. Bilder, J.M. Kane, D. Goldman, A.K. Malhotra: Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and volume of the hippocampal formation. *Molecular Psychiatry*, 2005, vol. 10:631-636.
11. J.A. Bueller, A. Macksood, S. Sen, D. Gomez-Hassan, M. Burmeister, J.-K. Zubieta: BDNF Val⁶⁶Met allele is associated with reduced hippocampal volume in healthy subjects. *Biological Psychiatry*, 2006, vol. 59, 812-815.
12. Z.-Y. Chen, P.D. Patel, G. Sant, C.-X. Meng, K.K. Teng, B.L. Hempstead, F.S. Lee: Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *Journal of Neuroscience*, 2004, vol. 24, 4401-4411.