

Genetiniai Rett'o sindromo aspektai

Laurent Villard, PhD

Aix Marseille University, Inserm UMR-S 910, Faculté de Médecine de Marseille, France.

DNR, genai ir baltymai: būtinos sąvokos

Rett'o sindromas yra genetinė liga. Genetines ligas sukelia kiekvienoje ląstelėje esančios DNR molekulės sekos pokyčiai. DNR turi visas instrukcijas, reikalingas organizmui kurti ir padaryti jį gyvu. Kiekviena DNR esanti instrukcija vadinama genu. Patys genai yra suskirstyti į keletą mažesnių nuoseklių DNR dalių, vadinamų „eksonais“.

Žmogaus DNR yra apie 30 000 genų. Kiekvienas genas turi instrukcijas surinkti atskiras aminorūgštis į aminorūgščių grandinę, vadinamą baltymu. Šie baltymai sudaro visą mūsų kūną, nuo mūsų raumenų iki odos ir nuo sąnarių iki mūsų smegenų.

Žmogaus DNR yra 23 poros chromosomų ($23 \times 2 = 46$ chromosomos). Chromosomų poros nuo 1 iki 22 yra pas vyrus ir pas moteris. Vyrų ir moterų chromosomos, kurios nulemia lytį, yra skirtingos: vyrai turi vieną X chromosomą ir vieną Y chromosomą (XY), o moterys - dvi X chromosomas (XX). Moterų organizmuose viena iš dviejų X chromosomų yra nuslopinta proceso, vadinamo X chromosomų inaktyvacija (žr. toliau).

DNR pasikeitimai yra nuolatiniai DNR molekulės pokyčiai. Šie pokyčiai gali būti perduodami iš tėvų vaikams. Kai šie pokyčiai atsiranda DNR sekoje, kuri koduoja baltymą, tai gali turėti keletą pasekmių: 1 - vienos aminorūgšties pakeitimas kita baltymuose, jos vadinamos „klaidingos prasmės kodonais“; 2 - aminorūgščių pakeitimas vadovaujantis nurodymu, sukeliančiu baltymo sintezės nutraukimą, yra vadinamas „beprasmiu kodonu“; 3 - skirtingo ilgio DNR segmentų praradimas arba pridėjimas, vadinamas atitinkamai iškrita arba intarpu. Iškritos arba tarpai atveju, gene įvyksta pokytis vadinamas „rėmelio pasislinkimu“, kuris paprastai sukelia baltymų sintezės nutraukimą; 4- nėra pasekmių (šie variantai vadinami „polimorfizmais“).

Kodėl DNR pasikeičia?

Kai ląstelė dalijasi (vystymosi metu arba suaugusiame organizme), ji turi dubliuoti savo DNR. Šis procesas yra ypač sudėtingas ir jame pasitaiko klaidų. Šios klaidos įtakoja naujai sintezuotos DNR molekulės pokyčius. Genetikai apskaičiavo, kad kiekvienas naujagimis turi naujų atsitiktinių variantų, kurių tėvuose nebuvo (vadinamųjų „de novo“ variantų). Be to, jie taip pat turi tam tikrą variacijų, paveldėtų iš tėvų, rinkinį. Per kartas šis procesas įnešė milžinišką DNR molekulės skirtumų kiekį ir dabar žmogaus DNR yra žinomi šimtai tūkstančių variantų [1]. Dauguma jų nesukelia ligos. Tačiau laikas nuo laiko įvyksta atsitiktinis DNR segmento pokytis, kuris keičia genų kodavimo seką taip, kad atitinkamas baltymas praranda normalią funkciją (visiškai ar iš dalies). Šis variantų pogrupis gali sukelti genetinę ligą, tokią kaip Rett'o sindromas.

Genai, kurių pokyčiai sukelia Rett'o sindromą

Pagrindinis Rett'o sindromo atsiradime dalyvaujantis genas vadinamas MECP2. Šis akronimas reiškia metil CpG rišantįjį baltymą 2. MECP2 genas pirmą kartą buvo identifikuotas atliekant tyrimus su pelėmis 1992 m. Adrian Bird laboratorijoje, Škotijoje [2]. Po ketverių metų buvo identifikuotas atitinkamas žmogaus genas [3]. Šis darbas buvo atliktas gerokai anksčiau negu buvo atrasta, kad šio geno mutacijos sukelia genetinę ligą. Atradimas buvo atliktas 1999 m. Huda Zoghbi laboratorijoje [4].

Žmonių organizmuose MECP2 genas yra X chromosomoje. Jį sudaro 4 eksonai, koduojantys 486 aminorūgščių baltymą. MECP2 baltymas yra vadinamasis „transkripcijos modulatorius“, o tai

reiškia, kad jis mūsų genome reguliuoja šimtų genų išraišką. Jo funkcija yra ypač svarbi normaliai smegenų veiklai [5].

CDKL5 genas (dar vadinamas STK9) yra X chromosomoje. 2004 m. tuo pačiu metu buvo paskelbti du tyrimai, identifikuojantys CDKL5 geno mutacijas pacientuose, kuriems pasireiškė Rett'o sindromą turinčių pacientų klinikiniai požymiai [6,7]. CDKL5 geno mutaciją turinčių vaikų klinikinis vaizdas tik iš dalies sutampa su klasikiniu Rett'o sindromu [8]. Keletas autorių kelia klausimą dėl pacientų, kurių CDKL5 genas yra mutavęs, priskyrimo prie „Rett'o sindromą“ turinčių asmenų grupės. Jie teigia, kad šie vaikai kenčia nuo kitos ligos [9].

Ištirus vaikus, kuriuos paveikė įgimtas Rett'o sindromo variantas, FOXP1 geno įtraukimas į Rett'o sindromo varianto formą buvo paskelbtas 2008 m. [10]. CDKL5 ar FOXP1 mutacijos yra reta Rett'o sindromo priežastis, o šių pacientų klinikinis fenotipas šiek tiek skiriasi nuo klasikinio Rett'o sindromo pacientų fenotipo.

Tad sakyti „Rett'o sindromo genas“ arba „mano dukra turi Rett'o sindromo geną“ yra klaidinga. „Rett'o sindromo geno“ nebūna. Rett'o sindromą sukelia konkrečių genų variacijos. Normalios genų kopijos nesukelia ligos. MECP2, CDKL5 ir FOXP1 genai yra kiekviename individe, jie koduoja baltymus, kurie atlieka vieną ar kelias funkcijas.

Kodėl nuo Rett'o sindromo beveik visada kenčia tik moterys?

Genų variacijos pasitaiko atsitiktinai, ląstelės dalinimosi metu (žr. aukščiau). Per visą vyriškos lyties individo gyvenimą pagaminama milijardai spermos ląstelių. Tai reiškia milijardus DNR kopijų ir milijardus galimybių atsirasti ligą sukeliančių pokyčių. Taigi, rizika, kad spermos ląstelėse bus genetines ligas lemiančių pokyčių yra daug didesnė nei moteriškos lyties individų gaminamuose kiaušinėliuose. Kadangi tėvas sūnui perduoda savo Y chromosomą (o ne X), jis negali perduoti MECP2 variacijos sūnui. Tai tikriausiai paaiškina, kodėl daugeliu atvejų nuo Rett'o sindromo kenčia moterys. Vis dėlto egzistuoja ir vyriškos lyties pacientai, turintys sutrikimą sukeliančius MECP2 geno pokyčius. Tačiau jų liga dažnai skiriasi nuo Rett'o sindromo moterų atveju ir pasireiškia nuo labai sunkios mirtinos encefalopatijos iki lengvo intelekto sutrikimo. Palyginti su Rett'o sindromą turinčių moterų skaičiumi, šie atvejai yra labai reti.

X chromosomos inaktyvacija

Rett'o sindrome svarbus vaidmuo tenka X chromosomų inaktyvacijai. X chromosomų inaktyvacija įvyksta kiekviename moteriškos lyties asmenyje, kai viena iš dviejų X chromosomų yra nutildoma. Nutildyta X chromosoma neprisideda prie baltymų gamybos iš savo genų [11]. X chromosomų inaktyvacijos procesas prasideda ankstyvuojant moteriškojo embriono vystymosi etapu. Tai įvyksta atsitiktinai. Ląstelėje nutildoma chromosoma X1 arba chromosoma X2. Vidutiniškai viena moteris turės 50% savo ląstelių, išreiškiančių X1, ir 50% jos ląstelių, išreiškiančių X2. Ji bus ląstelių „mozaika“, išreiškianti vieną ar kitą X chromosomą (bet niekada nebus išreiškiamos dvi X chromosomos vienoje konkrečioje ląstelėje). Rett'o sindromo atveju, kai MECP2 genuose yra ligą sukianti variacija, tokia variacija yra vienoje X chromosomoje (vaikas vadinamas „heterozigotiniu“). Jei variacijos vieta yra aktyvioje X chromosomoje, tada ląstelė bus „serganti“. Jei variacija yra neaktyvioje X chromosomoje, tada ląstelė bus normali. Taigi, pas Rett'o sindromą turinčias moteris yra pakitusių ir normalių ląstelių mozaika.

Sveikų moteriškos lyties asmenų populiacijoje X-chromosomų inaktyvacijos procentas skiriasi. Nuo tikėtino 50:50 santykio iki > 90:10 7% moterų iki 25 metų amžiaus [12]. Nustatyta, kad „normalių“ ir „sergančių“ ląstelių proporcija konkrečiame, Rett'o sindromą turinčio moteriškos lyties asmenyje, turi įtakos jos klinikinės situacijos sudėtingumui. X chromosomų inaktyvacijos profilis nėra perduodamas iš motinų dukterims.

Pasikartojimo rizika

Didžiąją Rett'o sindromo atvejų dalį sukelia de novo mutacijų atvejai. Tai reiškia, kad šį sindromą turinčio vaiko tėvai nėra ligą sukeliančių mutacijų nešėjai. Atsižvelgiant į tai, pasikartojimo rizika

yra maža ir prilygsta MECP2 ligą sukeliančios mutacijos atsiradimo rizikai bendrojoje populiacijoje (0,43-0,71 iš 10 000 moterų [13]).

Pasikartojimas gali įvykti tik dviem labai retais atvejais. Pirmoji situacija yra tada, kai mutacija pasitaiko vieno iš tėvų daugiau nei 1 lytinėje ląstelėje (kiaušinėlyje ar spermoje) (tai vadinama „gemaliniu mozaicizmu“). Antrasis atvejis yra tada, kai motina nešioja ligą sukeliančią MECP2 mutaciją ir tuo pačiu metu turi visiškai iškraipytą X-chromosomų inaktyvaciją (žr. aukščiau), kuri silpnina X chromosomą, turinčią mutacijų. Ši „ligą sukelianti“ chromosoma bus neaktyvi ir nepaveiks motinos, bet gali būti perduota ir paveikti vaikus, taip pat ir vyriškos lyties.

Šiuos du labai retus atvejus genetinės laboratorijos gali lengvai valdyti, kai ligą sukelianti mutacija yra identifikuota paveiktame vaike, o prireikus, jei būtina gali pasiūlyti genetinę konsultaciją arba prenatalinę patikrą. Reikia paminėti, kad susilaukti antro šį sindromą turinčio vaiko rizika šitose dviejose situacijose yra daug mažesnė už riziką prarasti vaisių po amniocentezės.

Šiuos klausimus būtina aptarti su genetikais, nes visos konkrečios situacijos ir patirtis yra skirtingos, todėl yra būtina individuali konsultacija.

Genų terapija

MECP2 geno funkcija nėra iki galo suprantama. Taigi, atkurti normalią jo tikslią funkciją ir taip „išgydyti“ Rett'o sindromą gali būti sudėtinga. Viena alternatyvi terapijos strategija galėtų būti ligą sukėlusią MECP2 versiją pakeisti normalia versija. Šis genų terapijos protokolai paciento ląstelėms pateiktų normalią geno kopiją. Kadangi Rett'o sindromas yra visų pirma smegenų liga, pagrindinis tikslas yra smegenų ląstelės. Šiuo tikslu mokslininkai naudoja taip vadinamus adeno-asocijuotus virusus (AAV), kurie yra modifikuoti siekiant pasinaudoti Trojos arklio strategija. Virusai yra saugūs, pašalinant jų virusinę DNR ir pakeičiant ją MECP2 kodavimo seka. Ši strategija gana sėkmingai yra bandoma su Rett'o sindromą turinčiais gyvūnais [14-17]. Tačiau laukia dar ilgas kelias, kol tas pats protokolai galės būti pritaikyti žmonėms.

Nuorodos

- [1] Lek, M., et al. (2016). Nature. 536:285-291.
- [2] Lewis, J. D. et al. (1992). Cell. 69, 905-914.
- [3] D'Esposito, M. et al. (1996). Mamm Genome. 7:533-535.
- [4] Amir, R. E. et al. (1999). Nat. Genet. 23:185-188.
- [5] Shah, R. R. & Bird, A. P. (2017). Genome Med. 9:17.
- [6] Tao, J. et al. (2004). Am. J. Hum. Genet. 75:1149-1154.
- [7] Weaving, L. S. et al. Am. J. Hum. Genet. 75:1079-1093.
- [8] Bahi-Buisson, N. et al. (2008). Brain. 131:2647-2661.
- [9] Fehr, S. et al. (2013). Eur J Hum Genet. 21:266-273.
- [10] Ariani, F. et al. (2008). Am J Hum Genet. 83:89-93.
- [11] Galupa, R. & Heard, E. (2015). Curr Opin Genet Dev. 31:57-66.
- [12] Sharp, A., Robinson, D. & Jacobs, P. (2000). Hum Genet. 107:343-349.
- [13] Bienvenu, T., et al. (2006). Pediatr Neurol. 34:372-375.
- [14] Gadalla, K. K. et al. (2013). Mol Ther. 21:18-30.
- [15] Garg, S. K. et al. (2013). J Neurosci. 33:13612-13620.
- [16] Matagne, V. et al. (2017). Neurobiol Dis. 99:1-11.
- [17] Sinnett, S. E. et al. (2017). Mol Ther Methods Clin Dev. 5:106-115.