

Genetisch aspecten van het Rett syndroom

Laurent Villard, PhD

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

DNA, genen en proteïnen: onmisbare begrippen

Het Rett syndroom is een genetische ziekte. Genetische ziekten worden veroorzaakt door de aanwezigheid van variaties in de sequenties van de DNA-molecuul dat zich in iedere cel bevindt. Het DNA bevat alle benodigde instructies om een organisme te maken en het te laten leven. De stukken DNA die deze genetische instructies bevatten worden een gen genoemd. De genen zelf zijn verdeeld in meerdere kleinere aaneengesloten DNA-delen, exonen genaamd.

Er zitten ongeveer 30.000 genen in het menselijk DNA. Elk gen bevat de instructies voor het omzetten van losse aminozuren in een keten van aminozuren. Dit wordt een proteïne genoemd. Ons hele lichaam bestaat uit deze proteïnen, van onze spieren tot onze huid en van onze gewrichten tot onze hersenen.

Het menselijk DNA zit vervat in 23 paren chromosomen ($23 \times 2 = 46$ chromosomen). Chromosoom 1 tot en met 22 zijn aanwezig in zowel mannen als vrouwen. Chromosomen die het geslacht bepalen zijn verschillend bij mannen en vrouwen: mannen hebben één X- en één Y-chromosoom (XY), terwijl vrouwen twee X-chromosomen hebben (XX). Bij vrouwen wordt een van de twee X-chromosomen uitgezet door een proces dat X-chromosoominactivatie wordt genoemd (zie hieronder).

DNA-varianties zijn permanente veranderingen in de DNA-molecuul. Deze varianties kunnen van ouder tot kind worden doorgegeven. Wanneer deze varianties zich voordoen in een DNA-sequentie die een proteïne maakt, kan dit meerdere gevolgen hebben. 1 – een aminozuur wordt in de proteïne vervangen door een ander; dit worden ‘missense’ varianties genoemd. 2 – een aminozuur wordt vervangen door een instructie waardoor de synthese van de proteïne wordt onderbroken; dit zijn ‘nonsense’ varianties. 3 – het verlies van of toevoeging in DNA-segmenten van verschillende lengtes; ook wel bekend als respectievelijk deleties of inserties. In het geval van schrappingen of invoegingen wordt het gevolg in het gen een ‘frameshift’ genoemd. Dit zorgt meestal voor een onderbreking van de proteïnesynthese. 4 – er is geen gevolg (deze varianties worden ‘polymorfismen’ genoemd).

Waarom doen varianties zich voor in het DNA?

Wanneer een cel zich splitst (tijdens de ontwikkeling of in een volwassene), dan moet het zijn DNA dupliceren. Dit proces is bijzonder ingewikkeld en loopt niet geheel foutloos. Deze fouten introduceren varianties in de net gesynthetiseerde DNA-molecuul. Genetici hebben berekend dat elke pasgeboren baby willekeurige varianties heeft die afwezig zijn in hun ouders (de zogenaamde ‘de novo’ varianties). Daarnaast dragen ze ook een specifieke set van varianties die ze hebben geërfd van hun ouders. Over de generaties heen heeft dit proces een enorme hoeveelheid varianties in de DNA-molecuul geïntroduceerd en er zijn dan ook honderdduizenden varianties bekend in het menselijk DNA [1]. De meeste hiervan veroorzaken geen ziekte. Het gebeurt soms echter dat een willekeurige variatie zich voordoet in een DNA-segment, waarbij de coderingsequentie van een gen zodanig verandert dat de bijbehorende proteïne de normale werking verliest (geheel of gedeeltelijk). Deze subgroep aan varianties kunnen een genetische ziekte veroorzaken, zoals Rett syndroom.

Genen waarvan varianties Rett syndroom veroorzaken

De belangrijkste gen die betrokken is bij Rett syndroom staat bekend als MECP2. Het acroniem staat voor methyl-CpG-bindend proteïne 2. Het MECP2-gen werd voor het eerst ontdekt in muizen in 1992 door het laboratorium van Adrian Bird in Schotland [2]. Het overeenkomstige menselijk gen werd vier jaar later ontdekt [3]. Dit werk werd gedaan nog lang voordat men wist dat mutaties in dit gen een genetische ziekte

veroorzaakt; dat was een baanbrekende ontdekking door het laboratorium van Huda Zoghbi in 1999 [4]. Het MECP2-gen bevindt zich in het X-chromosoom van mensen. Het bestaat uit 4 exonen die 286 aminozuurproteïnen coderen. De MECP2-proteïne is een zogenaamde 'transcriptiemodulator'. Dat wil zeggen dat het de uiting van honderden genen in ons genoom reguleert. Deze functie is met name belangrijk om het brein normaal te laten functioneren [5].

Het CDKL5-gen (ook wel STK9 genoemd) bevindt zich op de X-chromosoom. In 2004 werden er tegelijkertijd twee onderzoeken gepubliceerd die mutaties hadden vastgesteld in het CDKL5-gen in patiënten die dezelfde klinische tekenen hadden als patiënten met Rett syndroom [6,7]. Het klinische beeld dat kinderen een mutatie in het CDKL5-gen in zich meedragen, komt slechts gedeeltelijk overeen met dat van het klassieke Rett syndroom [8]. Er zijn meerdere auteurs die de classificatie in twijfel trekken van patiënten met gemuteerde CDKL5 in de groep «Rett syndroom» patiënten. Zij stellen dat deze kinderen aan een andere ziekte lijden [9].

Dat het FOXP1-gen betrokken is bij een variant van Rett syndroom werd gepubliceerd in 2008 [10]. Dit is het geval bij kinderen die zijn getroffen door de aangeboren variant van Rett syndroom. Mutaties in CDKL5 of FOXP1 zijn een zeldzame oorzaak van Rett syndroom. Het klinische fenotype van deze patiënten is enigszins verschillend van die bij klassieke Rett syndroom-patiënten.

Uitspraken als 'Rett syndroom-gen' of 'mijn dochter heeft het gen voor Rett syndroom' zijn misleidend. Er bestaat geen 'Rett syndroom-gen'. Er bestaan variaties die Rett syndroom veroorzaken als ze voorkomen in specifieke genen. De normale exemplaren van deze genen veroorzaken geen ziekte. De MECP2-, CDKL5- en FOXP1-genen zijn aanwezig in ieder individu en ze coderen een proteïne die een of meerdere functies vervult.

Waarom zijn patiënten met Rett syndroom bijna altijd vrouwen?

Variaties in het DNA gebeuren bij toeval wanneer cellen zich delen (zie hierboven). Spermacellen worden met miljarden geproduceerd tijdens het leven van mannelijke individuen. Dit zijn miljarden van DNA-kopieën en miljarden mogelijkheden voor een ziekteverwekkende variatie om zich voor te doen. Daarom is het risico dat een variatie die een genetische ziekte veroorzaakt zich voordoet in spermacellen veel hoger dan in vrouwelijke eicellen. Omdat vaders hun Y-chromosoom doorgeven aan hun zoon (en niet hun X-chromosoom), kunnen ze geen MECP2-variantie doorgeven aan een zoon. Dit is waarschijnlijk de reden dat de meeste gevallen van Rett syndroom zich voordoen bij vrouwen. Mannelijke patiënten met de ziekte die variaties in het MECP2-gen veroorzaken bestaan wel. Hun ziekte is echter heel verschillend van Rett syndroom en varieert van zeer ernstige fatale encefalopathie tot matige verstandelijke beperkingen. Deze gevallen zijn extreem zeldzaam vergeleken met vrouwelijke gevallen van Rett syndroom.

X-chromosoominactivatie

Het fenomeen van X-chromosoominactivatie speelt een belangrijke rol bij Rett syndroom. X-chromosoominactivatie komt bij ieder vrouwelijk individu voor. Eén van de twee X-chromosomen wordt uitgezet en draagt niet bij aan de productie van proteïnen middels de genen die het bevat [11]. Het proces van X-chromosoominactivatie doet zich voor tijdens de vroege ontwikkeling van het vrouwelijk embryo. Het doet zich willekeurig voor en ofwel chromosoom X₁ of chromosoom X₂ kan worden uitgezet door elke cel. Gemiddeld heeft een vrouw 50% cellen waar X₁ actief is en 50% cellen met X₂ actief. Ze is een 'mozaïek' van cellen die de ene of de andere X-chromosoom uitdrukken (maar nooit allebei tegelijkertijd in dezelfde cel). Als er bij Rett syndroom een ziekteverwekkende mutatie aanwezig is in het MECP2-gen, dan draagt een enkele X-chromosoom de variatie (het kind is dan 'heterozygoot'). Als de variatie zich bevindt in de actieve X-chromosoom, dan wordt de cel 'ziek'. Als de variatie zich bevindt in de inactieve X-chromosoom, dan is de cel normaal. Vandaar dat vrouwen met Rett syndroom een mozaïek zijn van aangetaste en normale cellen.

Onder de bevolkingsgroep van gezonde vrouwen wisselt het percentage van X-chromosoominactivatie van vrouw tot vrouw en van een verwachte 50:50-ratio tot een >90:10 bij 7% van de vrouwen die jonger zijn dan 25 jaar [12]. Het percentage 'normale' versus 'zieke' cellen bij een vrouw met Rett syndroom heeft duidelijke gevolgen voor de ernst van haar klinische presentatie. Het X-inactivatieprofiel wordt niet doorgegeven van moeder tot dochter.

Herhalingskans

De overgrote meerderheid van Rett syndroom-gevallen wordt veroorzaakt door *de novo*-variaties. Dat wil zeggen dat de ouders van het getroffen kind geen dragers zijn van de ziekteverwekkende variatie. Binnen deze context is de herhalingskans laag en is deze gelijk aan die van de algemene bevolking voor het hebben van een ziekteverwekkende MECP2-variantie (0,43 tot 0,71 per 10.000 vrouwen [13]).

Er zijn twee extreem zeldzame situaties waarbij herhaling wordt geconstateerd. Het eerste geval is als de variatie aanwezig is in meer dan 1 gameet (ei of zaad) van een ouder (dit heet 'germinale mosaïcisme'). Het tweede geval is wanneer een moeder een ziekteverwekkende variatie in MECP2 meedraagt en tegelijkertijd een zeer scheve X-chromosoominactivatie heeft (zie hierboven), die de X-chromosoom met de variatie uitzet. Deze 'ziekteverwekkende' chromosoom staat uit in de onaangetaste moeder, maar kan worden doorgegeven aan getroffen kinderen, waaronder mannen.

Deze twee extreem zeldzame situaties kunnen gemakkelijk worden beheerst door genetische laboratoria wanneer een ziekteverwekkende variatie is geïdentificeerd in een getroffen kind. Genetische begeleiding of prenatale diagnose kunnen worden voorgesteld, indien nodig. Hierbij moet worden gemeld dat het risico van een tweede aangetast kind in deze twee situaties veel lager is dan om de foetus te verliezen na een vruchtwaterpunctie. Een consult met een geneticus is nodig om deze zaken te bespreken, omdat alle individuele gevallen en ervaringen anders zijn en gepersonaliseerde begeleiding nodig is.

Gentherapie

De werking van het MECP2-gen is nog niet volledig bekend. Daarom kan het lastig zijn om Rett syndroom te 'genezen' via het terugbrengen van de normale werking van de specifieke routes. Een alternatieve therapeutische aanpak kan zijn om de ziekteverwekkende versie van MECP2 te vervangen met een gezonde versie. Middels dit gentherapieprotocol wordt het normale exemplaar van het gen gebracht naar de cellen van de patiënt. Aangezien Rett syndroom voornamelijk een hersenziekte is, zouden hersencellen de belangrijkste doelwitten zijn. Met dit doel hebben wetenschappers aangepaste virussen gemaakt, genaamd adenovirus-geassocieerde virussen (AAVs), om een 'Trojaans paard'-strategie toe te passen. Virussen worden veilig gemaakt door hun virale DNA te verwijderen en te vervangen met de MECP2-coderingssequentie. Deze strategie wordt momenteel getest bij dierenmodellen van Rett syndroom met enig succes [14-17]. Er is echter nog een lange weg te gaan voordat hetzelfde protocol kan worden toegepast op menselijke patiënten.

[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.