

Генетические аспекты синдрома Ретта

Laurent Villard, PhD

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

ДНК, гены и белки: необходимые понятия

Синдром Ретта - генетическое заболевание. Генетические заболевания обусловлены наличием вариаций в последовательности молекул ДНК, содержащихся в каждой клетке. ДНК содержит все инструкции, необходимые для построения организма и обеспечения его жизнедеятельности. Каждая инструкция в ДНК называется геном. Сами гены разделены на несколько меньших последовательных порций ДНК, называемых "экзонами". В человеческой ДНК около 30 000 генов. Каждый ген содержит инструкции по сборке отдельных аминокислот в цепочку аминокислот, называемую белком. Эти белки составляют все наше тело, от мышц до кожи, от суставов до мозга.

ДНК человека содержится в 23 парах хромосом ($23 \times 2 = 46$ хромосом). Хромосомные пары от 1 до 22 присутствуют у мужчин и женщин. Хромосомы, определяющие пол, различаются у мужчин и женщин: мужчины имеют одну X-хромосому и одну Y-хромосому (XY), а женщины - две X-хромосомы (XX). У женщин одна из двух X-хромосом заглушается с помощью процесса инактивации X-хромосомы (см. ниже).

Вариации ДНК - это постоянные изменения в молекуле ДНК. Эти изменения могут передаваться от родителей детям. Когда эти изменения происходят при кодировании последовательности ДНК для белка, они могут иметь несколько последствий: 1 - замена одной аминокислоты на другую в белке, они называются "вариации миссенса"; 2 - замена аминокислоты командой, вызывающей прерывание синтеза белка, они называются "нонсенс вариациями"; 3 - потеря или прирост сегментов ДНК различной длины, называемые делециями или вставками, соответственно. Последствием делеций или вставок в гене является "сдвиг рамки", обычно вызывающий прерывание синтеза белка; 4 - не имеет никаких последствий (эти вариации называются "полиморфизмом").

Почему возникают отклонения в ДНК?

Когда клетка делится (в процессе развития или у взрослого человека), ей необходимо дублировать свою ДНК. Этот процесс особенно сложен и не является полностью безошибочным. Эти ошибки вносят изменения в только что синтезированную молекулу ДНК. Генетики подсчитали, что у каждого новорожденного есть новые случайные вариации, отсутствовавшие у родителей (так называемые вариации de novo). Кроме того, они также имеют специфический набор вариантов, унаследованных от родителей. Через поколения этот процесс привнес огромное количество вариаций в молекулу ДНК, и сотни тысяч вариаций известны в ДНК человека [1]. Большинство из них не вызывают заболеваний. Однако время от времени в сегменте ДНК происходит случайное изменение, при котором кодирующая последовательность гена изменяется таким образом, что соответствующий белок теряет свою нормальную функцию (полностью или частично). Эта подгруппа вариаций может вызвать генетическое заболевание, например, синдром Ретта.

Гены, вариации которых вызывают синдром Ретта

Основной ген, участвующий в синдроме Ретта, называется MECP2 (метил CpG связывающий протеин 2). Впервые ген MECP2 был идентифицирован у мышей в 1992 г. лабораторией Adrian Bird в Шотландии [2]. Соответствующий ген человека был идентифицирован четыре года спустя [3]. Эта работа была выполнена задолго до того, как

было установлено, что мутации в этом гене вызывают генетическое заболевание. Это прорывное открытие было сделано лабораторией Худа Зогби в 1999 г. [4].

Ген MECP2 находится на X-хромосоме человека. Он состоит из 4 экзонов, кодирующих 486 белков аминокислот. Белок MECP2 является так называемым "транскрипционным модулятором", то есть регулирует экспрессию сотен генов в нашем геноме. Его функция особенно важна для нормальной работы мозга [5].

Ген CDKL5 (также называемый STK9) находится на X-хромосоме. В 2004 г. в двух исследованиях, опубликованных одновременно, были описаны мутации, выявленные в гене CDKL5 у пациентов с общими клиническими признаками синдрома Ретта [6,7]. Клиническая картина детей с мутацией в гене CDKL5 лишь частично перекрывается с картиной детей с классическим синдромом Ретта [8]. Некоторые авторы ставят под сомнение классификацию пациентов, мутировавших по CDKL5, в группу пациентов с "синдромом Ретта". Скорее, они предполагают, что эти дети страдают от другого заболевания [9].

Участие гена FOXP1 в вариантной форме синдрома Ретта было отмечено в 2008 г. [10], у детей, страдающих врожденным вариантом синдрома Ретта. Мутации в CDKL5 или FOXP1 являются редкой причиной синдрома Ретта и клинический фенотип этих пациентов несколько отличается от такового у пациентов с классическим синдромом Ретта.

Выражения "ген синдрома Ретта" или "у моей дочери ген синдрома Ретта" вводят в заблуждение. Нет никакого "гена синдрома Ретта". Существуют вариации, вызывающие синдром Ретта, когда они возникают в определенных генах. Обычные копии генов не вызывают заболевания. Гены MECP2, CDKL5 и FOXP1 присутствуют в каждом отдельном организме и кодируют белок, выполняющий одну или несколько функций.

Почему пациенты с синдромом Ретта почти всегда женщины?

Изменения в ДНК происходят случайно при делении клеток (см. выше). Сперматозоиды вырабатываются миллиардами в течение жизни мужчин. Это означает миллиарды копий ДНК и миллиарды возможностей возникновения вариаций, вызывающих заболевание. Следовательно, риск возникновения вариаций, вызывающих генетическое заболевание, в сперматозоидах гораздо выше, чем в женских яйцеклетках. Поскольку отцы передают Y-хромосому своему сыну (а не X), они не могут передать сыну вариант MECP2. Это, вероятно, объясняет, почему большинство случаев синдрома Ретта приходится на женщин. Пациенты-мужчины с заболеваниями, вызывающими вариации MECP2, действительно существуют. Однако их болезнь сильно отличается от синдрома Ретта и варьируется от очень тяжелой фатальной энцефалопатии до легкой интеллектуальной инвалидности. Эти случаи крайне редки по сравнению с женскими случаями синдрома Ретта.

Инактивация X-хромосомы

Явление инактивации X-хромосом играет важную роль в синдроме Ретта. Инактивация X-хромосомы происходит у каждой женщины, у которой одна из двух X-хромосом заглушается и не способствует выработке белков из генов, которые она несет [11]. Процесс инактивации X-хромосом происходит на ранних стадиях развития женского эмбриона. Это происходит случайно, и любая из хромосом X1 или X2 может быть заглушена в данной клетке. В среднем, одна женщина будет иметь 50% экспрессирующих X1 клеток и 50% экспрессирующих X2 клеток. Она будет представлять собой "мозаику" клеток, экспрессирующих ту или иную X-хромосому (но никогда не две одновременно в данной клетке). При синдроме Ретта, когда в гене MECP2 присутствует вариация, вызывающая заболевание, вариация несет одна X-хромосома (говорят, что ребенок "гетерозиготен"). Если вариация расположена на экспрессированной X-хромосоме, то клетка будет "больна". Если вариация расположена на неактивной X-хромосоме, то клетка будет нормальной.

Следовательно, женщины с синдромом Ретта представляют собой мозаику пораженных и нормальных клеток.

В популяции здоровых женщин процент инактивации X-хромосом варьируется от одной женщины к другой и от ожидаемого соотношения 50:50 до >90:10 у 7% женщин в возрасте до 25 лет [12]. Процентное соотношение "нормальных" и "больных" клеток в данном синдроме Ретта у женщины, безусловно, влияет на тяжесть ее клинической картины. Профиль X-активации не передается от матери к дочери.

Риск повторения

подавляющее большинство случаев синдрома Ретта вызвано вариациями *de novo*. Это означает, что родители больного ребенка не являются носителями вариации, вызывающей болезнь. В этом контексте риск рецидива низок и равен риску возникновения у населения в целом вариации, вызывающей MECP2 (от 0,43 до 0,71 на 10 000 женщин [13]).

Существуют две крайне редкие ситуации, в которых можно наблюдать рецидив. Первая ситуация заключается в том, что вариация присутствует более чем в 1 гамете (яйцеклетке или сперме) одного родителя (это называется "зародышевой мозаикой"). Второй случай - когда мать несет болезненную вариацию в MECP2 и одновременно имеет полностью искаженную инактивацию X-хромосомы (см. выше), которая заглушает X-хромосому, несущую эту вариацию. Эта "вызывающая болезнь" хромосома будет заглушена у незатронутой матери, но может передаваться и проявляться у детей, в том числе мужчинам.

Эти две чрезвычайно редкие ситуации могут быть легко урегулированы генетическими лабораториями, когда у пострадавшего ребенка выявляется вызывающее болезнь изменение, и при необходимости может быть предложено генетическое консультирование или пренатальная диагностика. Здесь следует отметить, что риск рождения второго больного ребенка в этих двух ситуациях значительно ниже, чем риск потери плода после амниоцентеза.

Для обсуждения этих вопросов необходима консультация генетика, поскольку каждая конкретная ситуация и опыт отличаются от других, и необходимо индивидуальное консультирование.

Генная терапия

Функция гена MECP2 еще не полностью изучена. Следовательно, восстановление нормальной функции его целевых путей для "излечения" синдрома Ретта может оказаться затруднительным. Одна из альтернативных терапевтических стратегий может заключаться в замене вызывающей заболевания версии MECP2 нормальной версией. Этот протокол генной терапии доставлял бы обычную копию гена в клетки пациента. Поскольку синдром Ретта является главным образом заболеванием мозга, клетки мозга будут основными мишенями. С этой целью ученые используют вирусы, называемые аденоассоциированными вирусами (AAVs), модифицированные для применения стратегии "троянского коня". Безопасность вирусов обеспечивается путем удаления их вирусной ДНК и замены ее последовательностью кодирования MECP2. Эта стратегия с некоторым успехом тестируется в животных моделях синдрома Ретта [14-17]. Однако до применения такого же протокола для людей впереди еще долгий путь.

Источники

- [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.