

О. П. Обухович

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СИНДРОМА РЕТТА

*Научный руководитель канд. биол. наук, доц. Е. В. Чаплинская,
Кафедра биологии,*

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. В ходе работы были изучены и представлены основные гипотезы возникновения заболевания, проанализирована база данных RettSyndromeDatabase, охарактеризован спектр мутаций гена MeCP2. В работе также представлены основные функции белка, кодируемого геном MeCP2 и роль инактивации X-хромосомы в генезе заболевания.

Ключевые слова: синдром Ретта, мутации гена, ген MeCP2

Resume. The article deals with genetic aspects of the Rett's syndrome. The most important features of this disease as well as hypotheses about etiology of RTT are presented in the article. Thanks to analysis of the IRSA MECP2 Variation Database the proportion of mutations in a gene MeCP2 has been counted.

Keywords: Rett's syndrome, gene's mutations, gene MeCP2

Актуальность. В последние годы стремительно растет число детей с расстройствами аутистического спектра (РАС), что является общемировой тенденцией. На сегодняшний день в Беларуси проживает 786 детей с РАС: в 2005 году под наблюдением психиатрической службы находился 251 ребенок, на 1 января 2013 года - 700 детей. Кроме того, в настоящее время отсутствуют критерии для пренатальной диагностики синдрома Ретта.

Цель: изучение генетической составляющей синдрома Ретта.

Задачи:

1. Проанализировать имеющиеся и выделить ключевые гипотезы возникновения синдрома Ретта.
2. Определить роль генетических детерминант в генезе болезни.
3. Рассчитать соотношение различных видов мутаций в гене MeCP2 и в его доменах у пациентов с синдромом Ретта.

Материал и методы. В ходе работы были использованы материалы молекулярных и цитогенетических исследований, предоставленные Международной ассоциацией синдрома Ретта [1]. С целью изучения количественного соотношения мутаций в гене MeCP2 при RTT была проанализирована международная база

данных RettBaseIRSA [5]. Для обработки статистических данных использовались стандартные статистические программы Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и их обсуждение.

В ходе работы высчитывалась частота (%) встречаемости различных видов мутаций в гене MeCP2 (рисунок 1).

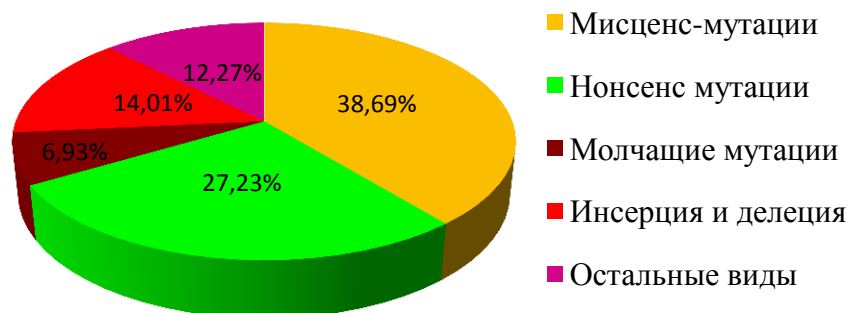


Рисунок 1 – Соотношение видов мутаций в гене MeCP2

Мутации гена MeCP2 находят у большинства индивидуумов (до 91%), имеющих клинические признаки классического РТТ и лишь в 55-60% атипичных случаев. Обнаруживаемые при РТТ мутации гена MeCP2 можно разделить на несколько основных категорий.

1. Мисценс мутации, преимущественно находящиеся в MBD. Процентное содержание этих мутаций среди обследованных детей составляет 38,69%.

2. Нонсенс мутации, большинство которых расположено между MBD и TRD, а также непосредственно в TRD. Подобная особенность расположения мутаций в MBD и TRD связана с повышенной склонностью последовательности гена MeCP2 к мутационной изменчивости в данных участках. Процент встречаемости данной мутации у пациентов с синдромом Ретта составляет 27,29%.

3. Молчащие мутации, которые обнаруживаются с наибольшей вероятностью в участке размером примерно 100 п.н. (от с.1096 до с.1197) и незначительно влияют на функции белка MeCP2, т.к. участок от 366 до 388 а.о. не имеет важного функционального значения. Доля таких мутаций невелика и составляет 6,92%.

4. Инсерции или делеции, находящиеся в С-концевом сегменте. Их доля составляет 14,01%.

Восемь мутаций (четыре мисценс-мутации и четыре нонсенс-мутации) являются рекуррентными и встречаются у 65% детей с данной патологией. Другие мутаций встречаются значительно реже. При некоторых атипичных формах синдрома Ретта проявляются мутации и в других генах, локализованных в хромосоме X.

Ген MeCP2 представляет собой весьма консервативную последовательность, причем не только в ее кодирующей части, но и в 3'- и 5'-нетранскрибируемой области и в интроне 2. Ген MeCP2 человека был картирован в участке Xq28, состоит

из четырех экзонов, кодирует метил-СрG-связывающий белок (MeCP2). Белок MeCP2 состоит из 485 аминокислотных остатков и содержит 4 функциональных домена:

- метил-СрG-связывающий домен (MBD; 85 а.о.);
- домен транскрипционной репрессии (TRD; 104 а.о.);
- сигнал ядерной локализации (NLS; 95 а.о.);

-С-концевой сегмент. (201 а.о.). С-концевой сегмент белка содержит эволюционно консервативные полигистидиновую и полипролиновую последовательности [4].

Поскольку ген MeCP2 имеет длинную пространственную цепь, была рассчитана частота мутирования каждого домена (рисунок 2).

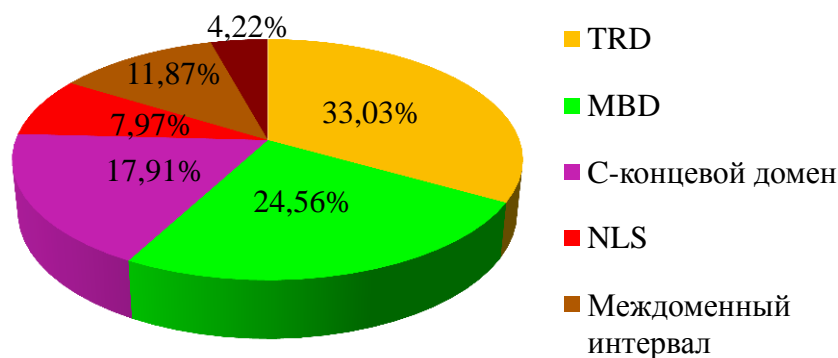


Рисунок 2 – Распределение мутаций по доменам

Наиболее подвержен мутациям домен TRD, также значительное количество мутаций приходится на MBD. Соответственно, можно сделать вывод, что именно эти 2 домена (ведь в сумме частота мутаций превышает 50%) играют ключевую роль в определении роли белка, кодируемого данным геном, а следовательно изучение молекулярного строения этих доменов представляет важный перспективный характер. Относительно функции белка, кодируемого геном MeCP2 на сегодняшний день нет единой точки зрения, однако:

1. Считается, что белок MeCP2 связывается с метилированными CpG сайтами не связывается с неметилированными. Продемонстрирована способность транскрипционной репрессии белка MeCP2 в клетках как *in vivo*, так и *in vitro*. Соответственно, была выдвинуто предположение о наличии второй основной функции белка MeCP2-подавление транскрипции. Когда белок MeCP2 связывается с метилированными CpG-сайтами, он инициирует комплекс, содержащий гистондеацетилазы и ко-репрессор Sin3A. Это в конечном итоге приводит к компактизации хроматина, делая его недоступным для РНК-полимеразного комплекса, приводя к стабильной репрессии.

2. Известно, что MeCP2 контролирует экспрессию генов, необходимых для

развития синапсов.

3. Недавно была высказана точка зрения, согласно которой белок MeCP2 является модулятором транскрипции, способным как увеличивать, так и уменьшать экспрессию транскрипционно активных генов путем регулирования структуры хроматина.

Следует отметить, что представленные точки зрения не исключают, а дополняют друг друга [3].

Доля мутаций в междоменном интервале невелика, однако также представляет большой научный интерес. Мутации, происходящие в интроне, составляют малую часть, их процент соответствует проценту генетического груза. Подобные мутации могут наблюдаться и у абсолютно здоровых людей.

С целью обобщения вышесказанного, была рассчитана частота встречаемости различных видов мутаций в каждом из доменов (рисунок 3).

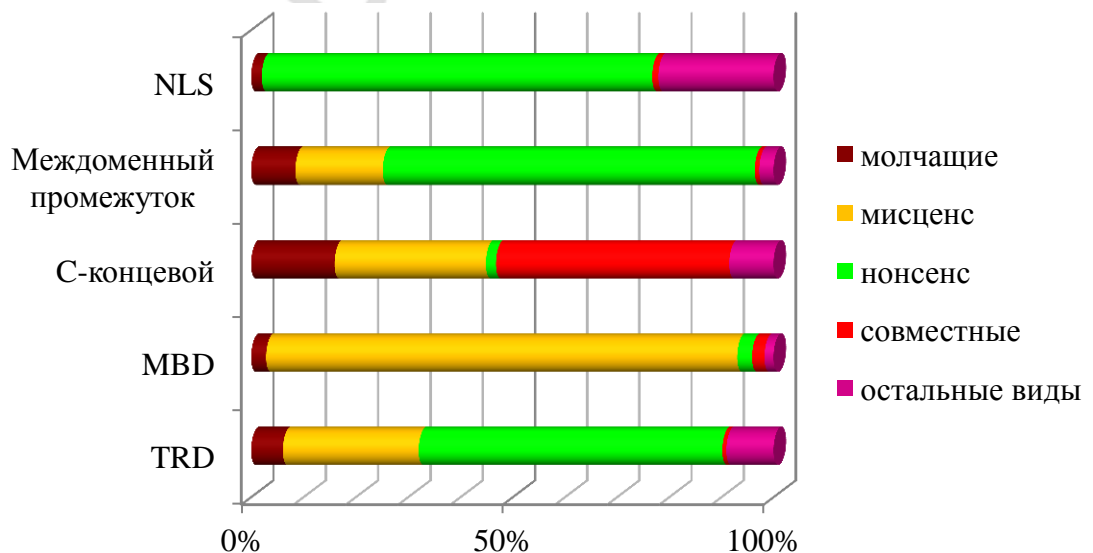


Рисунок 3 – Виды мутаций в доменах

В домене TRD, NLS и междоменном интервале преобладают нонсенс мутации, в MBD мисценс мутации. Мисценс мутации отсутствуют в NLS домене. Совместные мутации проявляются чаще всего в С-концевом фрагменте.

В настоящее время общепринятым считается X-сцепленный характер наследования данного заболевания. Это подтверждают найденные у ряда больных хромосомные аномалии со стороны длинного плеча X хромосомы [1].

При изучении особенностей репликации хромосомы X было выявлено, что у всех больных РТТ обнаружен особый вариант поздно реплицирующейся хромосомы X (тип С), не встречавшийся в контрольной группе. Молекулярно-цитогенетические исследования показали асинхронную репликацию большинства участков хромосомы X, тогда как участок Xq28 и непосредственно ген MeCP2

демонстрировали синхронную репликацию. В связи с чем, была высказана мысль о том, что ген MeCP2 в некоторых клетках не подвержен X-инактивации, что приводит к компенсации экспрессии мутированного гена MeCP2. Данный феномен может быть использован в диагностической практике [2].

Выводы:

1. основополагающими причинами возникновения синдрома Ретта являются генетические факторы. Наиболее общепринятой считается гипотеза о X-сцепленном характере наследования, на ряду с ней рассматривается гипотеза о влиянии X-инактивации на проявление синдрома.

2. Преобладающим видом мутаций в гене MeCP2 является миссенс-мутации (38,69%), встречающиеся во всех доменах, за исключением NLS.

3. Наиболее подвержен мутации домен TRD гена MeCP2 (частота мутирования-33,03%). В данном домене преобладающими являются нонсенс-мутации (58,19% среди других видов мутаций данного домена).

O. P. Obuhovich

GENETIC ASPECTS OF THE RETT'S SYNDROME

Tutor Associate professor E. V. Chaplinskaya,

Department of Biology,

Belarusian State Medical University, Minsk

Литература

1. Официальный сайт Международной Ассоциации синдрома Ретта [Электронный ресурс]/ International Rett's syndrome Association. – Research. – 2014 Symposium. – Режим доступа: <http://www.rettssyndrome.org>. (дата обращения: 25.09.14).

2. Cytogenetic and molecular - cytogenetic investigation of Rett syndrome: analysis of 31 cases [During the research of X-inactivation...] / S. G. Vorsanova, L. A. Demidova, Ulas [et al.] // Neuroreport. – 1996. – № 7. – P. 187-189.

3. Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription [Hypotheses about the function of MeCP2...] / P. L. Jones, G. J. Veenstra // Nat.Genet. – 1998. – №19. – P.187-191.

4. Search of a genetic basis for the Rett syndrome [Gene MeCP2...] / P. S. Martinho, P. G. Otto // Hum.Genet. – 1990. – №86. – P.131-134.

5. RettBase [Электронный ресурс]/ MECP2 Mutation Data Form.-MeCP2 Mutation Database. – Режим доступа к сайту: <https://www.rettbase.org>. (дата обращения: 25.09.14).