

DOI 10.26724 / 2079-8334-2017-4-62-183-186

УДК 575.224:616-056.7-039.42

Э. Н. Кованова, Л. Я. Федонюк, Т. В. Бигуняк, Е. О. Бигуняк, М. И. Кулицкая  
ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет им. И. Я. Горбачевского  
МОЗ Украины», Тернополь

### ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СИНДРОМА РЕТТА. АССОЦИИРОВАННЫЕ С ЭПИМУТАЦИЕЙ C→mC В ТРАНСГЕНЕРАЦИОННОМ НАСЛЕДОВАНИИ

e-mail: kovanovae@ukr.net

Эпимутация C→mC, ассоциированная с образованием метилцитозина в CpG островках при репликации ДНК хромосом, возникает у мальчика-деда F0 поколения в сенситивном периоде гаметогенеза под влиянием средовых факторов. Эпимутация и замена C-G на A-T приводят к продукции неполноценного протеина MeCP2, что ведет к дефектной регуляции экспрессии генов, контролируемой протеином MeCP2 и нарушает постнатальное развитие мозга ребенка. Экспрессия фенотипа синдрома Ретта при трансгенерационном наследовании может наблюдаться у мальчика-внука F2 поколения вследствие гомозиготизации гомологичных локусов q28 X и Y хромосом. В результате трансгенерационного наследования у мальчиков и девочек разных поколений наблюдается одноаллельная и биаллельная однородительская дисомия mat и pat происхождений.

**Ключевые слова:** синдром Ретта, pat, mat происхождение, трансгенерационное наследование, эпимутация, однородительская дисомия.

Синдром Ретта (CP) впервые описал как самостоятельное заболевание австрийский педиатр А.Ретт в 1966 году [19]. В. Harberg выделил это заболевание в отдельную нозологическую группу, назвав его «Синдромом Ретта» [13]. В настоящее время CP рассматривается как X-сцепленное редкое генетическое заболевание девочек (1:10000, 1:15000), спорадические случаи которого ассоциируются с экспрессией CP по доминантному типу. Клинически классические случаи CP проявляются постнатальным нарушением развития нервной системы, прежде всего, умственной отсталостью (занимает 2-е место после синдрома Дауна), а также аутизмом, замедлением роста окружности головы, потерей речи, утратой произвольных движений, появлением стереотипных движений рук, судорогами. Умственное развитие ребенка с CP останавливается на уровне 4-х летнего возраста. В большинстве случаев ребенок после рождения развивается вначале нормально, нервно-психические расстройства начинают проявляться постепенно в возрасте 6-18 месяцев.

В 80 % случаев CP ассоциируется с мутациями гена MECP2 (methyl-CpG-binding protein 2) [1, 2], который кодирует протеин MeCP2 и локализован в локусе Xq28 длинного плеча X хромосомы. Протеин MeCP2 при метилировании ДНК, присоединяясь к ДНК, может регулировать транскрипцию кодонов и контролирует экспрессию генов, необходимых для развития синапсов между нейронами BDNF, ID1, EGR2, JUN3 и др. Мутации гена MECP2, ведущие к нарушению продукции и структуры протеина MeCP2, тем самым нарушают развитие головного мозга и его функционирование [2, 3, 8, 23]. В 10 % случаев синдром Ретта ассоциируется с мутациями генов CDKL5 или FOXP1 [11]. Генетические основы патогенеза заболевания изучены в ряде исследований [7, 9, 10, 17, 20, 21]. Мутации генов, как правило, возникают de novo и экспрессируются в фенотипе больных CP почти исключительно у девочек в гетерозиготном состоянии по X-сцепленному доминантному типу. Считается, что у мальчиков такие мутации гена MECP2 в гемизиготном положении приводят к летальному исходу. Описано всего около 60 случаев CP у мальчиков [4, 5, 6, 14, 15, 16, 21]. В Украине последний случай CP наблюдался у пациента в возрасте 3-х лет и 2-х месяцев с клиническим диагнозом «синдром Ретта», у которого при генетическом анализе был установлен кариотип 46, XY с миссенс-мутацией в 4 экзоне гена MECP2: с.398 G-T, р.R133L, т.е. мутация была обнаружена в типичном для CP месте [6, 19]. Главной причиной развития CP являются различные мутации гена MECP2, наиболее часто делеции, приводящие к нарушению последовательности нуклеотидов, продукции дефектного протеина MeCP2, что ведет к дерегуляции экспрессии генов и нарушает постнатальное развитие мозга ребенка. У матерей, унаследовавших мутированные гены от родителей по мужской линии, может наблюдаться носительство, которое протекает бессимптомно [19]. Известны семейные случаи заболевания CP, которые чаще встречаются при

близкородственных браках, а также случаи заболеваний без мутаций [6, 14, 15]. В связи с тем, что только генетическими изменениями в генотипе больных СР, ассоциированными с мутациями, трудно объяснить случаи заболевания СР у детей без мутаций, а также более редкие, чем у девочек, заболевания среди мальчиков как и случаи живорожденных мальчиков с фенотипом СР.

**Целью** работы был поиск и изучение возможных эпигенетических механизмов развития СР.

**Материал и методы исследования.** На основании материалов исследований эпигенетических механизмов развития СР мы изучили возможность эпимутации С→mС в инициации развития СР у детей как альтернативы классической генной мутации.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Характерные для СР нарушения функции гена МЕСР2 и кодируемого им протеина MeCP2 – регулятора экспрессии генов с соответствующими молекулярными изменениями могут проявляться без нарушения последовательности нуклеотидов, вследствие первичной эпимутации. Эпимутация С→mС: присоединение метильной группы к углероду, расположенному в положении 5 пиримидинового кольца цитозина в островке CpG при репликации ДНК X и Y хромосом ведет к спариванию метилцитозина вместо гуанина (G) с тимином (T), а группа СН<sub>3</sub>, присоединившись к цитозину (C), нарушает считывание цитозиновых кодонов. Эхансеры транскрипции, с которыми взаимодействуют факторы транскрипции, могут препятствовать взаимодействию с белками репрессорами. Спонтанное дезаминирование метилцитозина ведет к мутации – замене пары С–G на А–T [9]. Для выяснения вопроса о том, как замена оснований C,G на A,T может конкретно повлиять на продукцию полноценного протеина MeCP2, нами проведена такая замена C, G на A, T в кодонах аминокислот стандартного генетического кода, результаты которой представлены на таблице 1.

Таблица 1

**Замена c-g на a-t в кодонах аминокислот стандартного генетического кода**

1-е основание	2-е основание				3-е основание				
	U	C	A	G					
U	UUU	(Phe/F) Фенил-аланин	UTU	(Ser/S) Серин	UAU	(Tyr/Y) Тирозин	UAU	(Cys/C) Цистеин	U
	UUT		UTT		UAT		UAT		C
	UUA	(Leu/L) Лейцин	UTA	UAA	Стоп (Охра)	UAA	Стоп (Опал)	A	
	UUA		UTA	UAA	Стоп (Янтарь)	UAA	(Trp/W) Триптофан	G	
C	TUT	(Leu/L) Лейцин	TTU	(Pro/P) Пролин	TAU	(His/H) Гистидин	TAU	(Arg/R) Аргинин	U
	CUC		TTT		TAT		TAT		
	TUA		TTA	TAA	(Gln/Q) Глутамин	TAA			A
	TUA		TTA	TAA		TAA			G
A	AUU	(Phe/F) Фенил-аланин	ATU	(Thr/T) Треонин	AAU	(Asn/N) Аспарагин	AAU	(Ser/S) Серин	U
	AUT		ATT		AAT		AAT		C
	AUA	(Met/M) Метионин	ATA	(Lys/K) Лизин	AAA		AAA	(Arg/R) Аргинин	A
	AUA		[A]		ATA		AAA		G
G	AUU	(Val/V) Валин	ATU	(Ala/A) Аланин	AAU	(Asp/D) Аспарагиновая кислота	AAU	(Gly/G) Глицин	U

Вследствие такой замены изменяется смысловая нагрузка кодонов аминокислот, в том числе метионина, который играет иницирующую роль в синтезе протеина. Отдельные кодоны ряда аминокислот приобретают способность кодировать различные аминокислоты: AUA – изолейцин и метионин; AAA – лизин и аргинин; кодоны AAU и AAT – аспарагин и серин; AAU – аспарагиновую кислоту и глицин; TAA – глутамин и аргинин; UAU – тирозин и цистеин. Кодон UAA, который образовался вследствие замены в стандартном кодоне триптофана UGG, является гомологом стандартного стоп-кодона Ochre, а стандартные стоп-кодоны Amber и Opal также приобретают гомологичные кодоны UAA. В итоге все стоп-кодоны и кодон триптофана смогут осуществлять функцию, свойственную для стандартного кодона Ochre. Перечисленные выше изменения в кодонах аминокислот в результате их считывания приводят к продукции неполноценного протеина MeCP2, который будет нарушать экспрессию генов в постнатальном развитии мозга ребенка. Нарушения

механизма экспрессии генов, инициированные эпимутацией, могут играть весьма существенную роль в развитии СР, если учесть, что эпимутации, ассоциированные с факторами внешней среды, возникают в 100 раз чаще, чем спонтанные мутации, а цитозинные CpG островки с динуклеотидами CG составляют около 80 % всех CG нуклеотидов и около 60 % всех активно транскрибируемых генов. Эпигенетические модификации ассоциированные с aberrантным метилированием ДНК, могут трансгенерационно наследоваться в поколениях, если они возникают в сенситивном периоде препубертатного гаметогенеза.

На схеме можно проследить наследование эпимутации C→mC в трех поколениях (F0→F2), от деда к внукам, X и Y хромосомами pat (отцовского) и mat (материнского) происхождения. Если предположить, что эпимутация C→mC возникает под влиянием средовых факторов при репликации ДНК X и Y хромосом у мальчика F0 поколения, то его эпигенотип будет содержать aberrантно метилированные X и Y хромосомы, унаследованные от матери (mat) и отца (pat) соответственно. Aberrантно метилированная X хромосома мальчика F0 поколения передается только дочерям F1 поколения, которые смогут передать ее своим сыновьям F2 поколения. В результате трансгенерационного наследования у мальчиков и девочек разных поколений наблюдается одноаллельная и биаллельная однородительская дисомия mat и pat происхождений. В хромосоме X в локусе Xq28 расположен ген MECP2. Хромосома Y имеет aberrантно метилированный гомологичный локус q28. Экспрессия СР у мальчиков-внуков в этом случае сможет происходить вследствие гомозиготизации гомологичных локусов q28 X и Y хромосом. Таким образом, эпимутация, в отличие от мутации, не экспрессирует в гемизиготном положении. Экспрессия эпимутации в виде фенотипа СР возможна у мальчиков-внуков вследствие гомозиготизации гомологичных локусов X и Y хромосом.

### Заключение

Эпимутация C→mC в островках CpG и замена C-G на A-T в цитозинных кодонах могут инициировать молекулярные нарушения, аналогичные ассоциированным с мутациями и создают молекулярный базис для альтернативного пути развития СР у девочек и мальчиков без первичной мутации. Образование метилцитозина в островках CpG в промоторах гена (эпимутация C→mC) при aberrантном метилировании можно объяснить случаи заболеваний СР без первичных мутаций-делеций. Экспрессией фенотипа СР только у внуков, при условии изначальной первичной эпимутации у деда, можно объяснить более редкие случаи заболеваний у мальчиков, чем у девочек (эпимутация деда экспрессирует только у внука, т.е. только в последнем из 3-х поколений). Можно предполагать, что в спорадических случаях заболевания у девочек когда эпимутация возникает de novo, она инициирует экспрессию фенотипа заболевания преимущественно pat происхождения как при классической мутации. Эпимутация X хромосомы при этом находится в гетерозиготном состоянии и экспрессирует по доминантному принципу. Эпимутация X хромосом отцовского происхождения у женщин, по-видимому, не экспрессирует, также как и первичные мутации, унаследованные женщинами от родителей по отцовской линии. Однородительская дисомия, которая имеет место у внуков вследствие трансгенерационного наследования эпимутации, может объяснить случаи эмбриональной летальности у мальчиков и девочек и, возможно, случаи ее экспрессии в фенотипе СР.

### Список литературы

1. Amir RE, Van den Yuser IB, Wan M, Tran CO, Francke U, Zoghbi HY. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2 encoding methyl-CpG-binding protein2, Nat. Genet. 1999; 23, 2:185-188.
2. Amir RE, Zoghbi HY. Rett Syndrome: methyl-CpG-binding protein 2 mutation and phenotype-genotype correlations. Am.J. Med.Genet. 2000; 97,2:147-152.
3. Berridge CW, Waterhouse BD. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive process, Brain Res.Dev. 2003; 42, 33: 33-84.
4. Budgeb SS, Dorssey HC, Steine RD. Clinical profile of a male with Rett syndrome. Brain and Dev. 2005; 27: 569-571.
5. Charytonov VI, Kashin AI. Rett syndrome in a boy: the presentation of a case. Bulletin of the Association of Psychiatriks of Ukraine. 2012;1: 1-4.
6. Charytonov VI. Rett Syndrom`s diagnostic in a patient of male sex, NEURONEWS. 2013; 2 (47): 1-4.
7. Christodoulou J, Ho G. MeCP2 Related Disorders, 2012, pp 1-29. In Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH., Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, Biard TD, Fong CT, Mefford HC, Smith RJH, Stephens K, Gene Reviews. [Internet] Seattle (WA): University of Washington, Seattle Gene Reviers. 1993; 2016; 2012.
8. Delcuve GP, Rastergam M, Davia JR. Epigenetic Diseases. J. Cell.Physiol. 2009; 2: 243-250.
9. Gvozdev VF. Regulation of gene activity due to chemical modification (methylation) of DNA. Sorosovsky Educational Journal. 1999; 10: 11-17.
10. Giard M, Couvert P, Carrie A, Tardieu M, Chelly J, Beldjord C, Bienvenu T. Parental origin of de novo MECP2 mutations in Rett syndrome, Europ. Hum. Genet. 2001; 1,9, 3: 231-236.
11. Grechanina JuB, Grechanina EJ. Epigenetic diseases. Rett syndrome. Clinical genetics. 2011; 1,2: 35-48.

12. Guerrini R, Parrini R. Epilepsy in Rett syndrome, and CDKL5- and FOXG1- Gene-related encephalopathies. *Epilepsia*. 2012; 12: 2067-2078.
13. Harberg B, Aicardi J, Dias K, Ramos O A. progressive syndrome of autism, dementia, ataxia, and loss purposeful hand use in girls Rett's syndrome: report of 35 causes, *Annals of neurology*.1983; 14, 4: 471-479.
14. Meloni I, Brutini M, Longo I, Man F, Rizzolio F, D'Adamo P, Denvnendt K, Fryns J-P, Toniolo D, Renieri A A. Mutation in the Rett Syndrome Gene, MECP2, Causes X-Linked Mental Retardation and Progressive Spasticity in Males. *Am.J.Genet.* 2000; 67.4: 982-985.
15. Moog U, Smeets EEJ, Roosendaal KEP, Schoenmakers S, Harberg J. Neurodevelopmental disorders in males related to the gene causing Rett syndrome in females (MECP2). *Europ.J. Pediatric Neurology*. 2003; 1.7, 1: 5-12.
16. Phillipart M. The Rett syndrome in male, *Brain Dev.* 1990; 12, 1: 33-36.
17. Rett A. On a unusual brain atrophy syndrome in hyperammanemia in childhood, *Wien. Med. Wochen.* 1966; 116, 37: 723-726.
18. Rasanzeva LZ, Ulas WU. Childre Rett Syndrome. *J. Treatments doctors.* 1998; 1: 1-9.
19. Renieri A, Meloni I, Longo I, Ariani E, Mari F, Pessucci C, Cambi F. Rett Syndrome: the complex nature of a monogenic disease. *J. Mol. Med.(Berlin)*. 2003; 81, 6: 346-354.
20. Shahbazlan MD, Young JI, Yuva-Paylor LA, Spencer CM, Antalffai BA, Noebels JL, Armstrong DL, Paylor R, Zoghbi HY. Mice with Truncated MeCP2 Recapitulated Many Rett Syndrome Feature and Display Hyperacetylation of Histone H3. . *Brain Phys.* 2002; 2: 243-254.
21. Villard L, Krebe A,Cardoso C, Chelly J, Tardieu U, Fontes M. Two affected boys in a Rett syndrome family. *Neurology*. 2000; 55, 8: 1188-1193.
22. Van den Yeyer IB, Zoghbi HY. Mutations in the gene encoding methyl-CpG- binding protein2 cause Rett syndrome, *Brain. Dev.* 2001; 1: 147-151.
23. Trappe R, Laccone F, Cobilanschi J, Meins M., Huppke P, Hanefeld F, EngelW. MECP2 mutations in sporadic cases of Rett syndrome are almost exclusively of paternal origin. *J. Hum. Gen.* 2001; 68, 5: 1093-1101.

## Реферати

### ЕПІГЕНЕТИЧНІ І ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ СИНДРОМУ РЕТТА. АСОЦІЙОВАНІ З ЕПІМУТАЦІЄЮ C → mC, У ТРАНСГЕНЕРАЦІЙНОМУ УСПАДКУВАННІ

Кованова Е.Н., Бігуняк Т.В., Бігуняк К.О.,  
Кулицкая М.И.

Епімутація C→mC, асоційована з утворенням метилцитозину в CpG острівцях при реплікації ДНК хромосом виникає у хлопчика-діда F0 покоління у сенситивному періоді гаметогенезу під впливом факторів середовища. Епімутація і заміна C-G на A-T призводять до продукції неповноцінного протеїну MeCP2, що призводить до дефектної регуляції експресії генів, яка контролюється протеїном MeCP2, і руйнує постнатальний розвиток мозку дитини. Експресія фенотипу синдрому Ретта при трансгенераційному успадкуванні може спостерігатися у хлопчика-внука F2 покоління внаслідок гомозиготизації гомологічних локусів q28 X та Y хромосом. У результаті трансгенераційного успадкування у хлопчиків і дівчаток різних поколінь спостерігається одноалельна та біалельна однабатьківська дисомія mat і pat походження.

**Ключові слова:** синдром Ретта, pat, mat походження, трансгенераційне успадкування, епімутація, однабатьківська дисомія.

### EPIGENETIC AND GENETIC ASPECTS OF RETT SYNDROME, ASSOCIATED WITH EPIMUTATION C → mC IN THE TRANSGENERATIONAL INHERITANCE

Kovanova E.N., Bihuniak T.V, Bihuniak K.O.,  
Kulitska M.I.

The C→mC epimutation associated with the formation of methylcytosine in CpG islands occurs under the influence of environmental factors during the gametogenesis in the generation F0 of the boy-grandfather. Epimutation and the replacement of CG on AT promote the production of defective MeCP2 protein that can deregulate gene expression in the postnatal development of the child's brain. Expression of the phenotype of Rett syndrome in transgenerational inheritance can be observed in the different generations grandson boy due to homozygosity of homologous loci of q28 X and Y chromosomes. As a result of transgenic inheritance in boys and girls of different generations there is a uniallelic and biallelic uniparent dysomia of mat and pat origin.

**Key words:** Rett syndrom, pat, mat origin, transgenerational inheritance, epimutation, uniparent dysomia.

Стаття надійшла 9.09.2017 р.

Рецензент Білаш С.М.