

Czy dialog genów ze środowiskiem może kształtować fenotyp zachowania w zespole Retta i innych zaburzeniach?

May the dialogue between genes and environmental factors modify the behavioural phenotype of Rett syndrome and others?

Alina T. Midro¹, Henryk Midro²

¹ Zakład Genetyki Klinicznej AM w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. A. T. Midro

² Klinika Psychiatrii AM w Białymstoku

Kierownik: dr hab. n. med. A. Czernikiewicz

Summary

Formation of a phenotype during development of the human being may result from a specific dialogue between genes and environmental factors. Expression of particular genes is controlled not only on the transcriptional level but also on the level of accessibility of genetic information through the influence for remodelling of chromatin. We characterized Rett syndrome and its molecular basis as an example of the relation between genes and environment and their influence on epigenetic processes determining the gene expression. Examples of importance of DNA methylation in psychiatric disorders were shown.

Słowa klucze: gen, czynniki środowiskowe, epigenetyka, zespół Retta

Key words: genes, environmental factors, epigenetics, Rett syndrome

Wstęp

Powszechnie wiadomo, że stwierdzenie obecności cech charakteryzujących odmienny fenotyp morfologiczny może być podstawą klinicznego rozpoznawania zmian genetycznych u człowieka [1]. Analogiczną metodą diagnostyczną jest ocena fenotypu zachowania (fenotypu behawioralnego), rozumianego jako zbiór cech ruchowych, poznawczych, lingwistycznych i społecznych, który jest charakterystyczny dla danego schorzenia natury biologicznej [2]. Jak wykazali Plomin i Rende [3], cechy te są mierzalne i mogą być obserwowane w sposób powtarzalny. Podobieństwo fenotypu zachowania w danym zespole, uwarunkowanym genetycznie (np. w z. Smitha-Magenis czy Lesha-Nyhana), wynika z tych samych zaburzeń mechanizmów molekularnych. Poznanie podłoża genetycznego, jak np. sklonowanie genu i znalezienie jego mutacji w danym zespole, lub wykrycie określonej formy niezrównoważonego kariotypu na

poziomie mikroskopowym lub submikroskopowym, obok możliwości potwierdzenia diagnozy klinicznej, otwiera drogę do badań nad patomechanizmem występowania poszczególnych składowych obrazu klinicznego danego zespołu. Należy pamiętać, że udział czynników środowiskowych, także zewnętrz- i wewnątrzkomórkowych, oraz zmienność tzw. tła genetycznego u poszczególnych osób mogą decydować o różnorodności ekspresji poszczególnych objawów i odmiennym stopniu ich nasilenia.

Jednym z przykładów zaburzeń neurorozwojowych, rozpoznawanych na podstawie charakterystycznego fenotypu behawioralnego, jest zespół Retta (OMIM #312750). Jest on konsekwencją zaburzeń wywołanych brakiem białka MeCP2 (**M**ethyl-**C**pG-binding **P**rotein **2**) lub jego niepełnej funkcji jako skutek mutacji genu *MECP2* (OMIM #300005) położonego na chromosomie X, podlegającego inaktywacji losowej zgodnie z hipotezą Lyon [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. Białko transkrypcyjne MeCP2 wykazuje zdolność wiązania się ze zmetylowanymi regionami CpG DNA oraz – poprzez tworzenie swoistych kompleksów białkowych – indukuje kaskadę zmian prowadzących do modelowania (przebudowy) stanu chromatyny z aktywnej na nieaktywną, a więc blokującą dostęp do informacji genetycznej danego obszaru chromosomowego. Wiadomo, że każda komórka jest wyposażona w taki sam zasób zakodowanej informacji genetycznej i tylko nieznaczna jej część może być dostępna w odpowiednim miejscu (w tkance) i czasie (w rozwoju). Udział białka MeCP2 w regulacji dostępności do informacji genetycznej, zwłaszcza w zakresie adaptacji układu nerwowego do zmieniających się czynników środowiskowych, jest obecnie przedmiotem wielu fascynujących badań. Z tego względu badania nad zespołem Retta, z charakterystycznym fenotypem zachowania jako konsekwencją zaburzeń mechanizmów regulacji ekspresji genów w układzie nerwowym, mogą dostarczyć istotnych informacji pogłębiających naszą wiedzę o tym, jakie elementy dialogu genów ze środowiskiem są istotne w kształtowaniu fenotypu zachowania, a w perspektywie – jak poprawić konsekwencje kliniczne zaistniałych zaburzeń.

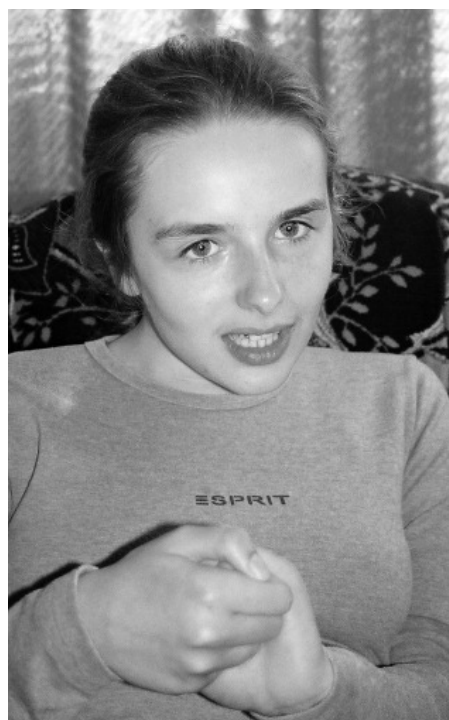
Fenotyp zachowania w zespole Retta

W zespole Retta wyróżnia się cztery fazy rozwoju zaburzeń klinicznych. Po okresie zazwyczaj prawidłowego rozwoju pre- i perinatalnego oraz pierwszych miesięcy życia może nastąpić spowolnienie przyrostów obwodu głowy. Nabyte małowłowie, jeśli wystąpi, jest jedną z niewielu cech morfologicznych obok niewielkich zmian układu kostnego, jak skrócenie 4 palców u nóg, czasem u rąk. Początek zaburzeń może być niezbyt wyraźny. Dzieci są zbyt spokojne, nie wykazują zainteresowania otoczeniem lub przestają interesować się zabawkami i reagować emocjonalnie na widok najbliższych, mogą unikać kontaktu wzrokowego, mogą demonstrować zachowania autystyczne. Stopniowo następuje utrata celowego używania rąk i zaraz potem pojawiają się ruchy stereotypowe – klaskanie, mycie, wygniatanie, uderzanie się po głowie i inne, wykonywane najczęściej w linii środkowej ciała, czasem za plecami. Nauczenie samodzielnego jedzenia czy zgłaszania potrzeb fizjologicznych jest możliwe, ale wymaga w tym okresie wsparcia pedagogicznego i zastosowania odpowiednio dobranych metod.

Występowanie stereotypii określa początek II stadium rozwojowego, zwanego okresem regresji, trwającym około kilku lat. Przebieg fazy regresji może mieć gwałtowny początek w postaci napadów krzyków nocnych, nieutulonego płaczu, napadów niezwykle, nieuzasadnionego psychologicznie pobudzenia albo też okresy różnorodnych zachowań autystycznych. Mogą wystąpić napady drgawkowe, drżenia rąk, nóg bądź całego ciała, często traktowane jako objawy padaczki. Pojawiają się zaburzenia oddychania w formie bezdechów i/lub hiperwentylacji, połykania powietrza. Okres gwałtownego pogorszenia może wystąpić po banalnej infekcji, zapaleniu ucha czy oskrzeli lub w sytuacji stresowej, albo bez widocznej przyczyny. Charakterystyczne jest również zahamowanie rozwoju mowy prowadzące najczęściej do całkowitej utraty zdolności posługiwania się językiem i wypracowanie szeregu form komunikacji pozawerbalnej. Umiejętności ruchowe takie, jak samodzielne siedzenie czy chodzenie zanikają później, w indywidualnym tempie: czasem jest to opóźnione siadanie, brak raczkowania, w innym zaś przypadku brak nabycia zdolności chodzenia lub chód na szerokiej podstawie („kaczkowaty”). W wieku 2 lat można już zaobserwować nabyte małogłowie. Ten objaw, jeśli wystąpi, należy do niewielu obiektywnie ocenianych cech klinicznych.

Wraz z wiekiem u części pacjentek widoczne jest zmniejszanie się ogólnej sprawności ruchowej, często w wyniku narastającej hipertonii, przykurczów mięśniowych i deformacji, nierzadko zimnych i małych stóp, oraz postępującego bocznego skrzywienia kręgosłupa piersiowego lub wygięcia do przodu odcinka lędźwiowego. Szereg objawów, takich jak trudności w połykaniu, połykanie powietrza, częste oddawanie moczu, zaparcia, zgrzytania zębami, apraksja, ataksja i padaczka, a potem dystonia, występują z różną częstością [12]. Brak zazwyczaj komunikacji werbalnej i gestykulacji rąk powoduje, że wiele objawów *stricte* medycznych nie jest zauważanych, np. bóle wskutek nieoczekiwanej w okresie przedszkolnym kamicy pęcherzyka żółciowego czy nerek, bóle zębów czy niepokój w związku z napięciem przed wystąpieniem miesiączki w okresie dojrzewania [13, 14, 15, 16]. Dramatyczne krzyki mogą wyrażać zarówno ból, jak i złość, smutek i frustrację. Niektóre dziewczynki krzyk traktują jako formę komunikacji oznajmiającej dyskomfort, głód czy pragnienie; może to być forma zwrócenia na siebie uwagi z braku innej możliwości, zwłaszcza, gdy ich komunikacja za pomocą mimiki czy gwałtownych ruchów ciała nie jest czytelna dla otoczenia. U części dziewczynek po 8 roku życia może wystąpić kolejna faza regresji emocjonalnej z długotrwałymi krzykami, nierzadko z biciem się po głowie i po twarzy, z towarzyszącą bezsennością [17, 18, 19]. Dziewczynki z zespołem Retta w wieku przedszkolnym i szkolnym cechuje szczególnie intensywny kontakt wzrokowy, widoczny zwłaszcza w III stadium rozwoju, zwanym psuedostacjonarnym. Fenotyp dziewczynki z zespołem Retta w III stadium rozwoju przedstawia rysunek 1.

Mount i wsp. [18] wykazali, że do 1999 r. opisano około 100 cech charakteryzujących fenotyp behawioralny dla zespołu Retta. Dalsze badania fenotypu behawioralnego w grupie dziewczynek z RTT, w porównaniu z grupą dzieci z zespołem Downa, mózgowym porażeniem dziecięcym i innymi zespołami z towarzyszącym upośledzeniem umysłowym, potwierdziły odmienności fenotypu behawioralnego zespołu Retta [20]. Odmiennie podejście – niż analiza cech fenotypu na podstawie poszukiwania defektów



Rys. 1. Fenotyp 16-letniej dziewczynki z zespołem Retta (prezentacja za zgodą rodziców)

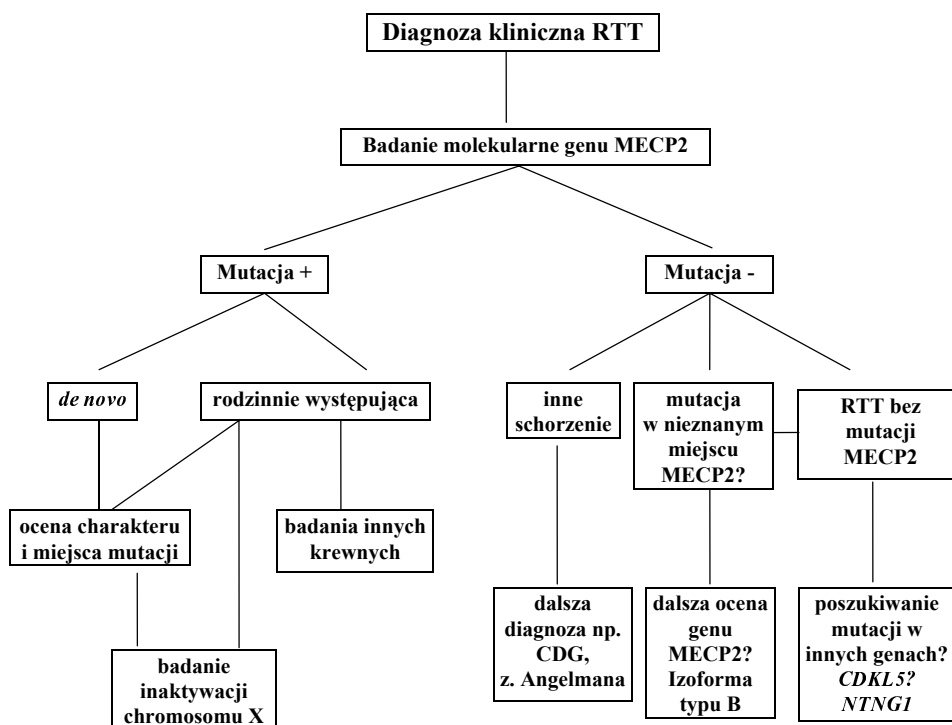
za pomocą wystandaryzowanych ankiet – reprezentują Stengel-Rutkowski i Anderlik [21]. Wykorzystując teorię pedagogiczną Marii Montessori, z zadaniami: „Patrz na dziecko” i „Pomóż mi to zrobić samemu”, opracowały metodę analizy jakościowej zapisu wideo montesoriańskiej sesji terapeutyczno-diagnostycznej. Ocena fenotypu zespołu Retta za pomocą tej metody wykazała obecność wielu umiejętności u chorych dziewczynek, takich jak ekspresja własnej woli, utrzymywanie uwagi, zdolność do przerywania niechcianych działań, wyrażanie emocji (lęku, śmiechu, radości czy niezadowolenia), zdolność nawiązywania relacji interpersonalnych [21]. Wynika z tego, że dziewczynki z RTT, tak jak zdrowi rówieśnicy, mają swoje potrzeby, których zaspokajanie ma istotny wpływ na ich dalszy rozwój umysłowy i które muszą być przez otoczenie rozpoznawane i poprzez właściwe oddziaływanie środowiskowe zaspokajane. Brak oczekiwań ze strony rodziców, nierzadko ich zaniżona ocena możliwości intelektualnych dziecka wpływa na nierozpoznanie potrzeb poznawczych i emocjonalnych, co ogranicza właściwe postępowanie wychowawcze. Bardzo często obserwuje się wręcz destrukcyjny wpływ niekorzystnych relacji środowiskowych kreujących wtórne upośledzenie umysłowe, obserwowane u dzieci odrzuconych i izolowanych społecznie [21, 22, 23]. Zespół Retta jest jednostką rozpoznawaną klinicznie wg podstawowych kryteriów, zawartych w tabeli 1.

Weryfikacja diagnozy klinicznej dokonuje się poprzez badanie molekularne genu *MECP2* Proponowany przez nas algorytm postępowania diagnostycznego przedstawia rysunek 2.

Tabela 1

Kryteria kliniczne rozpoznawania zespołu Retta wg Rett Syndrome Diagnostic Criteria Work Group [105]

Cecha kliniczna
1. Okres prawidłowego rozwoju przed- i okołoporodowego
2. Prawidłowy obwód główki po porodzie
3. Prawidłowy rozwój psychomotoryczny w ciągu pierwszych 6 miesięcy życia
4. Deceleracja wzrostu główki obserwowana pomiędzy 3 a 48 m. życia
5. Brak nabycia zdolności celowego posługiwania się rękoma w okresie 5–30 m. ż. z następowym rozwojem stereotypii ruchowych rąk
6. Zaburzenia rozwoju zdolności mówienia i rozumienia mowy z opóźnieniem rozwoju psychoruchowego
7. Brak nabycia umiejętności chodzenia i ataksja w okresie 12–48 m. życia



Rys. 2. Algorytm postępowania diagnostycznego w zespole Retta we własnym opracowaniu autorów

Jak widać, nie zawsze jest to weryfikacja jednoznaczna. Oprócz klasycznego fenotypu zespołu Retta, istnieje szereg form niepełnych, określanych jako wariant lub „forme fruste”, opisanych wcześniej [15].

Dialog genów z synapsą

Noblista Eric Kandel interakcje środowiska z genami w odniesieniu do procesów uczenia się i zapamiętywania nazywa obrazowo dialogiem genów z synapsą [24]. Jednym z istotnych elementów tego dialogu jest gromadzenie danych w pamięci długotrwałej jako wynik zmiany ekspresji genów na terenie jądra neuronów czuciowych. Synteza białek zachodzi w wyniku uaktywniana przez serotoninę (5-HT) określonych szlaków sygnalizacyjnych z udziałem mediatorów CREB [24]. Do białek syntetyzowanych, jako wynik reakcji synapsy na bodźce zewnętrzne (uczenie się), należą czynniki wzrostu, m.in. BDNF [25]. Zmiana ekspresji genów daje możliwość wzrostu nowych połączeń synaptycznych, a w konsekwencji – powód do zmian anatomicznych w mózgu. Z drugiej strony brak bodźców środowiskowych albo mutacje genów zaangażowanych w procesy synaptogenezy, lub wyciszenie genów przez obniżenie się stopnia metylacji ich promotorów, prowadzą do atrofii neuronalnej [25, 26]. Należy dodać, że istnieje związek pomiędzy redukcją metylacji DNA a procesem apoptozy i powstawaniem chorób neurodegeneracyjnych [27]. Dość interesujące są ostatnie badania grupy Kandela, wskazujące, że ekspresja genów indukowana przez powtarzające się pobudzenia synaptyczne jest regulowana poprzez zmiany stanu chromatyny w okolicy promotora genu podlegającego transkrypcji w zależności od siły i częstości wywoływania reakcji wzbudzenia synaptycznego. Indukowanie czynnika CREB1 przez serotoninę jest związane z indukcją aktywności acetylazy histonowej i ekspresją genu udostępnionego poprzez acetylację histonu chromatyny. Natomiast wprowadzenie przekaźnika FMRFa hamującego CREB2 wiąże się z indukcją deacetylazy histonowej prowadzącej do wyciszenia genu poprzez zmianę sfałdowania chromatyny, uniemożliwiającego ekspresję danego genu [28]. Jest to przykład wskazujący, że do zmiany ekspresji genu niekoniecznie muszą prowadzić zmiany sekwencji DNA poprzez jego mutacje, ale także poprzez regulacje epigenetyczne w udostępnianiu informacji genetycznej.

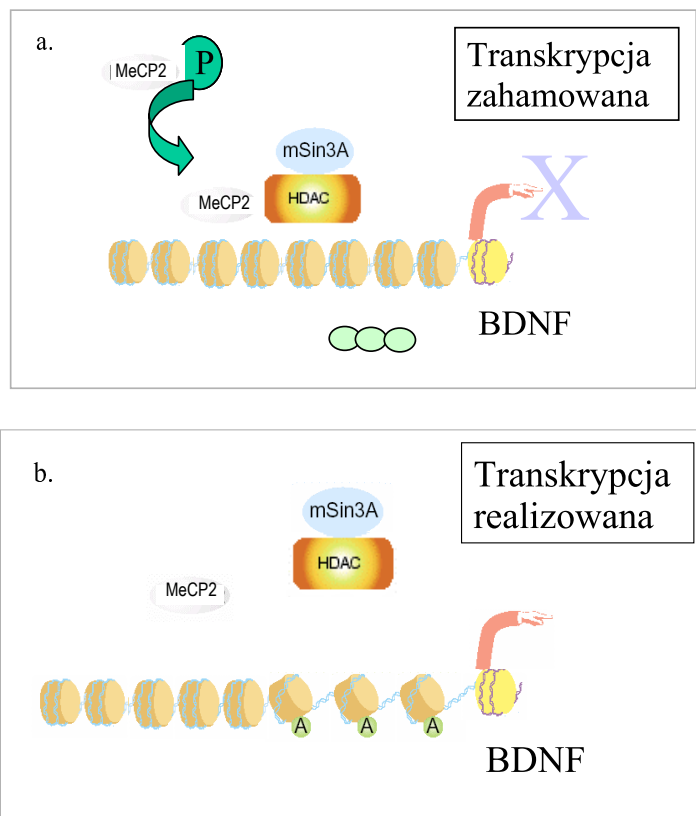
Mutacje genu kodującego białko CBP, wiążące mediator CREB, wywołują zespół Rubinsteina i Taybiego (OMIM #180849) z zaburzeniami rozwoju umysłowego i zmianami układu szkieletowego. W badaniach na modelu mysim tego zespołu wykazano, że zmiany w zakresie acetylacji chromatyny, prowadzące do zaburzeń niektórych form pamięci długoterminowej i potencjalizacji L-LTP (ostatniej fazy) w hipokampie, w pewnym zakresie mogą być odwracalne zarówno poprzez wzmocnienie ekspresji genów zależnych od CREB, jak i zahamowanie aktywności deacetylazy histonowej. Oznacza to, że zaburzenia obserwowane w zespole Rubinsteina i Taybiego są wynikiem nie tylko redukcji funkcji białka CBP w czasie rozwoju, ale także ograniczonej dostępności do genu produkującego CBP, istotnego podczas procesów adaptacyjnych układu nerwowego, regulowanych przez synapsę [29]. Ostatnio opublikowane badania grupy Kandela [30] wskazują na znaczący udział prodynorfiny, BDNF i molekuł MHC klasy I w utrzymaniu długoterminowej plastyczności synaptycznej w hipokampie. Ich ekspresja może być regulowana epigenetycznie.

Badania neuroobrazowania u dziewczynek z zespołem Retta i badania histopatologiczne za pomocą mikroskopu konfokalnego wykazały zmniejszenie się liczby

dendrytów i redukcję rozkrzewienia dendrytów neuronów piramidowych kory czołowej i ruchowej bez cech degeneracji [31, 32, 33]. Wypustki dendrytów są miejscem oddziaływań synaptycznych we wczesnym okresie życia rozwojowego i podczas regulowania wpływów środowiskowych w ciągu całego życia jednostki [34]. Są neuralgicznym punktem oddziaływania na sieć połączeń funkcjonalnych reagujących na bieżącą sytuację, czyli inaczej mówiąc są centrum dialogu genów ze środowiskiem. Zmniejszenie się liczby dendrytów i ich wypustek może wskazywać na rolę tego układu w patomechanizmie zespołu Retta. Na podstawie najnowszych danych klinicznych i eksperymentalnych postuluje się nawet, że zespół Retta jest wynikiem zaburzeń na poziomie synapsy [35, 36, 37].

Zmniejszona wielkość neuronów kory mózgowej, zwojów podstawnych, wzgórza, hipokampu, jąder migdałowych i istoty czarnej jąder niskim stopniem wysycenia melaniną wskazują na wybiórcze zatrzymanie lub znaczne spowolnienie procesów rozwojowych mózgu [38, 39]. Szereg badań eksperymentalnych na zwierzętach, hodowlach tkankowych i obserwacje kliniczne pacjentek z zespołem Retta wywołanym mutacją w obrębie genu *MECP2* wskazują, że białko MeCP2 jest istotne w funkcjonowaniu mózgu [40, 41, 42]. Jest to białko transkrypcyjne, więc może oddziaływać na szereg genów poprzez swoiste połączenie się z promotorem genu albo indukując zmiany konformacji chromatyny poprzez udział w kompleksie z deacetylazą histonową lub – jak ostatnio wykazano – bezpośrednio zmieniając stopień acetylacji niektórych histonów [43]. Poznano kilka swoistych genów podlegających wpływowi MeCP2 poza działaniem nieswoistym. Badania prowadzone na komórkach nerwowych myszy i szczurów wykazały, iż mysie białko MeCP2 wpływa na gen *BDNF* kodujący mózgowopochodny czynnik neurotrofowy [44, 45]. Białko MeCP2 wiąże się ze zmetylowanymi CpG w pobliżu III promotora genu *BDNF* w neuronach będących w stanie spoczynku. Jednakże, kiedy neurony są poddawane działaniu KCl (co powoduje depolaryzację błony i napływ wapnia), MeCP2 poprzez fosforylację oddysocjuje się od promotora genu *BDNF* umożliwiając jego transkrypcję. Martinowich i wsp. [45] wykazali, że białko SIN3A, współrepresor transkrypcji, który tworzy kompleksy z deacetylazami histonowymi i współdziała z MeCP2, jest również uwalnianie z kompleksu w wyniku działania KCl. Zatem utracie funkcji *MECP2* towarzyszą zmiany w obrębie histonów, które wpływają na zmianę struktury chromatyny. Można sądzić, że w zespole Retta utrzymuje się rozluźniona forma struktury chromatyny i następuje odsłonięcie DNA umożliwiające ekspresję genu *BDNF*, którego promotor także nie jest hamowany przez *MECP2*. Przedstawiono to na zaadaptowanym modelu Cho i wsp. [46] na rysunku 3.

Wydaje się, że u człowieka białko MeCP2 poprzez aktywną regulację ekspresji genu *BDNF* może brać pośrednio udział w procesach uczenia się i powstawania pamięci epizodycznej i długotrwałej. Opisano też udział *BDNF* w neurogennej regulacji rytmu oddychania, tzw. pamięci oddechowej, co może wskazywać, że wzmożona aktywność genu *BDNF*, przy braku białka MeCP2, może odpowiadać za często obserwowane w zespole Retta zaburzenia rytmu oddychania [47, 48]. Niedawno wykazano, że białko meCP2/MeCP2 może uczestniczyć w regulacji funkcji nerwowych u myszy i człowieka także poprzez oddziaływanie na funkcje genu *DLX5*, którego ekspresja powoduje produkcję białka stymulującego syntezę kwasu gamma aminomasłowego



Rys. 3. Działanie białka transkrypcyjnego MeCP2 na gen BDNF z uwidocznieniem białek współpracujących i modelowania chromatyny (adaptacja modelu Cho i wsp. [46])

a. Aby zahamować transkrypcję BDNF MeCP2 formuje kompleks z deacetylazą histonową (HDAC) i Sin3a, co powoduje kondensację chromatyny. Aktywatorem transkrypcji jest CREB.

b. Transkrypcja BDNF jest regulowana poprzez metylację jego promotora. Uwalnianie się MeCP2 z promotora rozluźnia chromatynę uaktywniając transkrypcję. Aktywatorem transkrypcji jest CREB.

GABA, w konsekwencji – na neuroprzeżywalność GABAergiczną [17]. Byłoby to zgodne z wynikami ostatnich obserwacji Johnstona i wsp. [37] o zwiększonej gęstości receptorów GABAergicznych w badaniach pośmiertnych mózgu osób z zespołem Retta. Zmiany w liczbie receptorów GABAergicznych obserwowano już wcześniej, zanim odkryto gen MECP2 [49]. Wyniki badań nad chromatyną regionu genu DLX5 i DLX6 u myszy wykazały utratę zdolności łączenia się tego regionu z deacetylazą histonową typu 1 poprzez tworzenie się nieprawidłowych pętli chromatynowych. W konsekwencji może dochodzić do utraty możliwości regulacyjnych, jakie wynikają ze zmian sfałdowania chromatyny tego regionu za pośrednictwem MeCP2, nie tylko we wczesnym okresie życia rozwojowego, ale podczas dialogu genów z synapsą,

a przez to dialogu genów ze środowiskiem. Badania Horike i wsp. [17] wykazały ponadto utratę piętna matczynego *DLX5* w liniach limfoblastycznych osób z zespołem Retta, co może być wynikiem także zaburzeń mechanizmu regulacji funkcji genu „imprintingowego” przez białko MeCP2 [50]. Należy dodać, że ekspresja genu *DLX5* położonego na chromosomie 7 w locus 7q22 jest notowana we wczesnym okresie życia płodowego, kiedy jest formowane przodomózgowie i produkowane jest białko odgrywające istotną rolę w rozwoju części twarzowej czaszki u człowieka. Podobnie utratę piętna matczynego genu ligazy białkowej 3A ubikwityny (*UBE3A*), wskutek braku epigenetycznej regulacji *MECP2* w neuronach hipokampu i w komórkach Purkinjego u myszy, zaobserwowała grupa Makedońskiego i wsp. [51] wskazując, że obniżenie się aktywności ligazy białkowej 3A ubikwityny może nastąpić bez obecności mutacji genu *UBE3A*, z podobnymi skutkami klinicznymi jak w zespole Angelmana. Jak wspomniano dalej, zaburzenie piętna genomowego może leżeć u podłoża zmian w inaktywacji chromosomu X w zespole Retta.

Badania metylacji DNA w psychiatrii

Na określenie nauki zajmującej się procesami metylacji DNA i innych zjawisk epigenetycznych regulujących funkcjonowanie genomu wprowadzono nazwę „metylomika” [52], nawiązując do bardziej znanych pojęć, takich jak genomika czy proteomika. Znaczenie metylomiki w psychiatrii jest coraz bardziej podkreślane. Abdolmaleky i wsp. [53] dokonali ostatnio przeglądu piśmiennictwa na temat znaczenia metylacji DNA i innych zjawisk epigenetycznych, takich jak genomowe rearanżacje i polimorfizm niektórych obszarów genomu [54], interferencyjny i edytujący RNA [55, 56], indukcja deacetylacji histonowej i remodelowanie chromatyny [57, 58], w powstawaniu zaburzeń psychicznych.

Metylacja DNA odbywa się w swoistych genach, głównie w regionie promotora zawierających dwunukleotydy cytozyny z guaniną (CpG), tworzące zgrupowania, tzw. wyspy CpG [59]. Zazwyczaj silnie zmetylowane regiony promotora wskazują na brak aktywności genu. Metylacja tych miejsc dokonuje się poprzez transfer grupy metylowej powstałej z adenozylo S metioniny do reszty cytozynowej w okresie życia płodowego. Metylacja DNA jest przekazywana z komórki na komórkę i utrzymywana poprzez aktywność metylotransferaz, białek enzymatycznych katalizujących reakcje metylacji dwunukleotydów CpG. Okazało się, że położenia (*loci geni*) genów kodujących metylotransferazy DNA bądź białka transkrypcyjne, łączące się ze zmetylowanym DNA (*MECP1* i *MECP2*), są zgodne z lokalizacją chromosomową miejsc wrażliwości genomowej, ustalonych w wyniku analizy sprzężeń z występowaniem schizofrenii i innych chorób afektywnych. Do takich miejsc należą loci dla: metylazy *DNMT1* w 19p [60, 61], *DNMT2* w 10p [62, 63, 64, 65], *DNMT3B* w 20q [66, 67, 68], *DNMT3L* w 21q [1, 63, 69], *MBD1* w 18q [63, 69, 70, 71] i *MBD2* w 3q [64]. Tabela 2 przedstawia rodzaj genów związanych z metylacją DNA i ich chromosomową lokalizację oraz wyniki analizy sprzężeń z występowaniem schorzeń psychicznych, w tym autyzmu.

Tabela 2

Lokalizacja chromosomowa miejsc wrażliwości genomowej sprzężonej z występowaniem schizofrenii i innych chorób afektywnych zgodna z położeniem (*loci geni*) genów białek związanych z metylacją DNA

Nr	<i>Locus geni</i> sprzężeń z SCH	Piśmiennictwo	Geny enzymów metylujących	Piśmiennictwo
1	2p23	?	DNMT3A	Xie i wsp. [68]
2	3q21-q22	Maziade i wsp. [64]	MBD4	Riccio i wsp. I [81]
3	10p15.1	Faraone i wsp. [100] Nurnberger, Foroud [63], Maziade i wsp. [64]	DNMT2	Vilain i wsp. [65]
4	12q24.2-q24.31	Shinkai i wsp. [101] Levecque i wsp. [102]	NOS1	Xu i wsp. (103)
5	18q21	Berrettini i wsp. [69], Nurnberger, Foroud [63], Van Broeckhoven, Verheyen [71]	MBD1,2	Hendrich i wsp. [70]
6	19p13.2	Badenhop i wsp. [60]	DNMT1	Yen i wsp. [61]
7	19p13.3	?	MBD3	Hendrich i wsp. [70]
8	20q11.2	Williams i wsp. [67]	DNMT3B	Xie i wsp. [68], Robertson i wsp. [66]
9	21q22.3	Nurnberger, Foroud [63], Berrettini i wsp. [69]	DNMT3L	Aapola i wsp. [104]
10	Xq28	Shibayama i wsp. [90] Sirianni i wsp. [98]	MECP2	Amir i wsp. [97]

W przypadkach schizofrenii obserwowano hipermetylację promotora reeliny (*RELN*), prowadzącą do zredukowanej ekspresji białka odpowiedzialnego za migrację neuronalną, rozkrzewianie aksonu i synaptogenezę. Dong i wsp. [72] wykazali na mysim modelu schizofrenii, że zwiększona metylacja promotora genu reeliny (*RELN*) oraz genu dekarboksylazy kwasu glutaminowego (*GAD67*) w korze przedczołowej związana jest ze wzmożoną aktywnością białek zawierających domenę MBD (wiążącą zmetylowane CpG). Wskazuje to na udział czynników modelujących chromatynę w epigenetycznej regulacji ekspresji tych genów. Podobny mechanizm zaobserwowano w odniesieniu do genu receptora D2 dopaminy – *DRD 2* [73], oraz genu receptora serotoniny *HTR2A* [74]. Odwrotnie jest w przypadku choroby Alzheimera, w której wraz z wiekiem zachodzi przyspieszona hipometylacja promotora genu kodującego prekursor A4 amyloidu [75].

Zmiany metylacji DNA mogą być indukowane nie tylko przez szereg białek, leków [43, 76, 77], w tym hormonów, ale również poprzez dietę. Efekt w postaci piętna (naznaczenia) poprzez silną metylację DNA lub jej osłabienie w określonych odcinkach

DNA może stanowić swoisty zbiór danych o zaistniałych interakcjach środowiskowo-genomowych we wszystkich tkankach. Jednym z lepiej poznanych składników diety, związanych z modulacją ekspresji DNA poprzez zmiany metylacji, jest kwas foliowy jako nośnik grup metylowych – jego niedobór sprzyja powstawaniu wad rozwojowych układu nerwowego [78]. Jak podali Young i Ghadirian [79], poprzez ułatwienie metylacji, kwas foliowy może być stosowany w zapobieganiu niektórym nowotworom i zaburzeniom neurodegeneracyjnym. Nie jest wykluczone, że może być proponowany w celu poprawienia funkcji poznawczych w zespole Retta, choć wyniki pierwszych prób klinicznych nie są jednoznaczne [78].

Zaburzenia dialogu genów ze środowiskiem poprzez mutacje genu MECP2

Zespół Retta jest pierwszym poznany schorzeniem, którego pierwotną przyczyną jest dysfunkcja białka regulatorowego wiążącego się bezpośrednio ze zmetylowanym DNA i uczestniczącego w regulacjach epigenetycznych. Białko MeCP2, łącząc się ze zmetylowanymi symetrycznie CpG w DNA, jednocześnie wchodzi w skład różnych kompleksów białkowych regulujących stan kondensacji chromatyny, co jest warunkiem dostępności do informacji genetycznej oraz konsekwencją zaburzeń regulacji epigenetycznych. Białko MeCP2 jest w stanie rozpoznawać zmetylowane odcinki DNA, a także, wchodząc w skład różnych kompleksów białkowych, może wpływać na stan kondensacji chromatyny, warunkując dostępność do informacji genetycznej [43]. Ostatnio okazało się, że nieprawidłowe wiązanie się białka MeCP2 może być też indukowane poprzez działania czynników oksydoredukcyjnych zmieniających miejsca zmetylowane promotorów genów podlegających działaniu genu MECP2 (80).

Gen MECP2 składa się z 4 eksonów [81], które są odczytywane w kierunku od telomeru do centromeru długiego ramienia chromosomu X. Kodowane białko występuje w dwóch izoformach – jedna to izoforma MeCP2 alfa zbudowana z 486 aminokwasów o masie cząsteczkowej 52,4 kD [82], druga to niedawno odkryta izoforma MeCP2 beta [57, 83, 84]. Sekwencja kodująca izoformy alfa składa się z 1461 nukleotydów i obejmuje eksony 2–4. Ekson 1 znajduje się w transkrypcie izoformy beta. Białko MeCP2 alfa ma dwie funkcjonalne domeny: domenę zwaną domeną MBD (methyl-CpG-binding domain), wiążącą zmetylowane dwunukleotydy CpG, najczęściej promotora różnych genów niezależnie od składu nukleotydowego, i domenę zwaną domeną TRD (transcriptional repression domain), wiążącą się z białkowymi korepresorami transkrypcji, takimi jak deacetylaza histonowa (HDAC) i białko sin3a, które poprzez modyfikację chromatyny z rozluźnionej na zwartą blokują dostęp do informacji genetycznej, czyli globalnie wyciszają ekspresję innych genów. Generalnie, poszczególne mutacje genu MECP2 wpływają na zmianę współdziałania białka MeCP2 ze zmetylowanym DNA innych genów [85], a także na jego działanie w kompleksach z innymi białkami [86]. Prowadzi to do różnych konsekwencji klinicznych: od klasycznego zespołu Retta z określonym fenotypem zachowania [52], poprzez jego łagodne postaci z zachowaną mową [62, 87, 88], do autyzmu [89], schizofrenii [90], niektórych postaci zespołu Angelmana [91] oraz niespecyficznego upośledzenia umysłowego sprzężonego z chromosomem X [92] czy ciężkiej encefalopatii u chłopców [15, 93]. Wskazuje to na

szeroki udział MECP2 w patopsychologii zaburzeń psychicznych. Badania ekspresji MECP2 w różnych komórkach mózgowych wykazały zmienne zapotrzebowanie na to białko szczególnie komórek o wysokiej ekspresji (MECP2^{hi}) i o niskiej (MECP2^{lo}) [94]. Jeżeli istnieje ścisła zależność pomiędzy modyfikacją chromatyny a metylacją DNA w mózgu, to jest wielce prawdopodobne, że wyciszanie pewnych genów neuronalnych polega na ich metylacji i indukowaniu białka MeCP2, jak to wykazały badania dotyczące genu *Hairy2a* w zarodkach żab [95] oraz pośrednie dane o udziale MeCP2 w działaniu na przebudowę chromatyny. Objawy zespołu Retta mogą być wynikiem albo tylko błędu w efektywności wyciszania zmetylowanych genów i utrzymywania braku dostępności do ich informacji genetycznej, albo jeszcze innej dodatkowej funkcji MECP2, na co wskazywałyby wyniki badania profilu ekspresji genów w mózgu myszy, wykluczające, że MECP2 jest globalnym represorem transkrypcji [23]. Fukuda i wsp. [96] przedstawili wyniki badań morfologicznych kory mózgowej u myszy hemizygotycznej w stosunku do produkowanego MeCP2, wskazujące, że opóźnione dojrzewanie kory mózgowej jest związane z przedwczesną synaptogenezą. Nagromadziło się więc szereg danych świadczących o tym, że prawidłowa ekspresja genu MECP2 może mieć znaczenie w procesie plastyczności synaptycznej, co szczególnie wskazuje na znaczenie udziału produkowanego białka w dialogu genów ze środowiskiem podczas adaptacji układu nerwowego do reakcji na czynniki środowiskowe z wykorzystaniem procesów regulacji epigenetycznych.

Gen MECP2, którego mutacje wywołują zespół Retta, jest położony pomiędzy genem kodującym kinazę związaną z receptorem interleukiny-1 (IRAK/Il1rak) oraz genem czerwonej opsyny ROP/Rsvp (*the red opsin gene*) na chromosomie X w ostatnim prążku ramienia długiego, czyli w *locus geni* Xq28 [97, 98]. W komórkach żeńskich gen MECP2 razem z chromosomem X podlega inaktywacji. Ma to istotne znaczenie w kształtowaniu się zakresu i nasilenia zmian klinicznych w przypadku wystąpienia mutacji genu MECP2, w zależności od tego, jaki będzie odsetek komórek z nieaktywnym chromosomem X zawierającym gen prawidłowy, a jaki z genem zmutowanym. Ostatnio na modelu mysim wykazano efekt imprintingowy indukcji formy selektywności na początku procesu inaktywacji chromosomu X w okresie zarodkowym myszy. Okazało się, że selektywność inaktywacji zależy od tego, czy mutacja genu MeCP2 jest na chromosomie ojcowskim czy matczynym [99]. Obecność w każdej komórce genu prawidłowego, chociaż w formie nieaktywnej z powodu silnej kondensacji chromatyny chromosomu inaktywowanego X, stała się podstawą do rozważania oryginalnego podejścia terapeutycznego w zespole Retta. Molekularna manipulacja prowadząca do stanu rozluźnienia chromatyny tego odcinka daje szansę na uaktywnienie prawidłowego genu produkującego prawidłowe białko. Takie możliwości otwierają się poprzez zastosowanie odpowiednio dobranych „chipów” polinukleotydowych [58]. Produkcja pełnowartościowego białka transkrypcyjnego MeCP2 u pacjentek z zespołem Retta w tych rejonach organizmu, które wymagają udziału MeCP2 poza okresem rozwojowym, poprawiłaby przynajmniej niektóre funkcje zaburzone w zespole Retta. Należy dodać, że autorzy tego pomysłu podjęli prace eksperymentalne na myszach dorosłych dowodząc, że możliwa jest aktywacja małego fragmentu chromosomu X, który w znacznej części jest inaktywowany we wczesnym okresie życia płodowego.

Jest to dość paradoksalne, że gen, którego ekspresja powoduje syntezę białka blokującego ekspresję innych genów, w sytuacji, gdy sam jest zablokowany – wymaga zewnętrznej „pomocy” poprzez przebudowę chromatyny i uwalniania go, gdy jego forma alleliczna jest zmutowana.

Dotychczasowa wiedza wytycza kierunki dalszych badań nad metylacją genów. Powinny one nie tylko ustalić relacje pomiędzy czynnikami środowiskowymi i genetycznymi kształtującymi fenotyp zachowania, ale także pozwolić na lepsze zrozumienie wieloczynnikowych uwarunkowań rozwoju chorób psychicznych i neurorozwojowych, poprawę ich leczenia i opracowania nowych podejść terapeutycznych.

Praca zrealizowana w ramach programu German-Polish Project BMBF nr POL 03/025 i 5253 oraz prac statutowych Akademii Medycznej w Białymstoku nr 3-06 604 i 3 06 942L.

PODZIĘKOWANIA: Autorzy wyrażają podziękowania rodzicom dziewczynki z zespołem Retta za zgodę na umieszczenie jej fotografii oraz doc. dr. hab. Andrzejowi Czernikiewiczowi z Kliniki Psychiatrii Akademii Medycznej w Białymstoku za możliwość prezentacji danych podczas III Podlaskich Warsztatów Psychiatrycznych, Białowieża 07–09.01.2005 r.

Является ли диалог генов со средой явлением формирования фенотипа поведения при синдроме Ретта и иных нарушениях?

Содержание

Формирование фенотипа в периоде развития человека может исходить из специфического диалога между генами и окружающей средой. Эти факторы контролируют экспрессию отдельных генов не только на уровне транскрипции, но также и на уровне регуляции доступности генетической информации путем их влияния на перестройку хроматина. Представлена характеристика синдрома Ретта и его молекулярную основу как пример взаимоотношений между генами и окружающей средой, влияющими на процессы эпигенеза, обуславливающие экспрессию генов. Приведены примеры значения метилиации ДНК в психиатрии.

Kann der Dialog der Gene mit der Umwelt den Phenotyp des Verhaltens im Rett - Syndrom und anderen Störungen gestalten?

Zusammenfassung

Die Gestaltung des Phenotyps während der Entwicklung eines Menschen kann aus einem besonderen Dialog zwischen den Genen und den Faktoren der Umwelt hervorgehen, die den Ausdruck einzelner Gene kontrollieren und zwar nicht nur auf dem Level der Transkription, sondern auch auf dem Level der Regulierung des Zugangs der genetischen Information durch ihren Einfluss auf den Umbau von Chromatin.

Das Rett - Syndrom und seine molekuläre Grundlagen wurden als Beispiel der Relation zwischen den Genen und der Umwelt charakterisiert, die sich auf die epigenetischen Prozesse auswirken, die den Ausdruck der Gene bedingen. Man gab Beispiele für die Bedeutung von DNA - Metylation in der Psychiatrie.

Le dialogue des gènes et des facteurs de l'environnement peut-il modifier le comportement dans le syndrome de Rett et d'autres troubles ?

Résumé

La formation du phénotype durant le développement de l'homme peut résulter du dialogue spécifique des gènes et des facteurs de l'environnement qui contrôlent l'expression des gènes

particuliers. Ce contrôle s'effectue non seulement au niveau de la transcription mais aussi au niveau de la régulation de l'accessibilité à l'information génétique en influant sur la reconstruction de la chromatine. Les auteurs caractérisent le syndrome de Rett et sa base moléculaire comme exemple des relations des gènes et des facteurs de l'environnement influant sur les processus épigénétiques déterminant l'expression des gènes et ils décrivent aussi des exemples de l'importance de la méthylation de DNA dans les troubles psychiatriques.

Piśmiennictwo

1. O'Brien G, Yule W, Nyhan WL. *Behavioural phenotypes*. Clin. Dev. Med. 1995; 138.
2. Flint J, Yule W. *Behavioural phenotypes*. W: Reuter M, Taylor E, Hersov L, red. *Child and adolescent psychiatry*, 3rd end. Oxford: Blackwell Scientific; 1994; s. 666–687.
3. Plomin R, Rende R. *Human behavioral genetics*. Ann. Rev. Psychol. 1991; 42: 161–190.
4. Amir RE, Van DV, Wan M, Tran CQ, Franke U, Zoghbi HY. *Rett syndrome is caused by mutation in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2*. Nat. Genet. 1999; 23: 185–188.
5. Weaving LS, Ellaway CJ, Gecz J, Christodoulou J. *Rett syndrome: clinical review and genetic update*. J. Med. Genet. 2005; 42 (1): 1–7.
6. Hagberg B. *Clinical delineation of Rett syndrome variants*. Neuropediatr. 1995; 26: 62.
7. Hagberg B, Hagberg G. *Rett syndrome: epidemiology and geographical variability*. Eur. Child Adolesc. Psychiatry 1997; 6: 5.
8. Hagberg B, Hanefeld F, Percy A, Skjeldal O. *An update on clinically applicable diagnostic criteria in Rett syndrome*. Eur. J. Paediatr. Neurol. 2002; 6 (5): 293–297.
9. Hagberg B, Skjeldal OH. *Rett variants: a suggested model for inclusion criteria*. Pediatr. Neurol. 1994; 11: 5–11.
10. Hagberg B, Witt-Engerstrom I. *Rett syndrome: a suggested staging system for describing impairment profile with increasing age towards adolescence*. Am. J. Med. Genet. 1986; 1: 47–59.
11. Hanefeld F. *The clinical pattern of the Rett syndrome*. Brain Dev. 1985; 7: 320–325.
12. Colvin L, Leonard H, de Klerk N, Davis M, Weaving L, Williamson S, Christodoulou J. *Refining the phenotype of common mutations in Rett syndrome*. J. Med. Genet. 2004; 1 (1): 25–30.
13. Bentkowski Z, Tyłki-Szymańska A. *Zespół Retta – aktualny stan wiedzy*. Pediatr. Pol. 1997; 72 (2): 103–112.
14. Midro AT. *Genetyczne położenie zespołu Retta – gen MECP2*. Neurol. Dziec. 2001; 10: 71–83.
15. Midro AT. *Poradnictwo genetyczne w zespole Retta. Część I. Diagnoza fenotypowa i molekularna*. Przegl. Pediatr. 2002; 32 (2): 98–103.
16. Percy AK. *Neurobiology and neurochemistry of Rett syndrome*. Eur. Child Adolesc. Psychiatry 1997; 6: 80–82.
17. Horike S, Cai S, Miyano M, Cheng J-F, Kohwi-Shigematsu T. *Loss of silent-chromatin looping and impaired imprinting of DLX5 in Rett syndrome*. Nat. Genet. 2004; 37: 31–40.
18. Mount RH, Hastings RP, Reilly S, Cass H, Charman T. *Behavioural and emotional features in Rett syndrome*. Disabil. Rehabil. 2001; 23 (3–4): 129–138.
19. Hunter K. *The Rett syndrome handbook*. IRSA (e). USA; 1999.
20. Mount RH, Charman T, Hastings RP, Reilly S, Cass H. *The Rett Syndrome Behaviour Questionnaire (RSBQ), refining the behavioural phenotype of Rett syndrome*. J. Child Psychol. Psychiatry 2002; 43 (8): 1099–1110.
21. Stengel-Rutkowski S, Anderlik L. *Abilities and needs of children with Rett syndrome*. Neurol. Dziec. 2001; 10 (19): 19–40.

22. Midro AT. *Poradnictwo genetyczne w zespole Retta. Część II. Problemy psychologiczne i prognoza rozwoju*. Przegl. Pediatr. 2002; 32 (2): 158–162.
23. Tudor M, Akbarian S, Chen RZ, Jaenisch R. *Transcriptional profiling of a mouse model for Rett syndrome reveals subtle transcriptional changes in the brain*. Proc. Nat. Acad. Sc. USA 2002; 99 (24): 15536–15541.
24. Kandel ER. *The molecular biology of memory storage: a dialog between genes and synapses*. Biosc. Rep. 2001; 21: 565–611.
25. Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ. *A molecular and cellular theory of depression*. Arch. Gen. Psychiatry 1997; 54 (7): 597–606.
26. Sadock V, Sadock B, red. *Kapla & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
27. Bertino L, Ruffini MC, Copani A, Bruno V, Raciti G, Cambria A, Nicoletti F. *Growth conditions influence DNA methylation in cultured cerebellar granule cells*. Brain Res. Dev. Brain Res. 1996; 95: 38–43.
28. Guan Z, Giustetto M, Lomvardas S, Kim JH., Miniaci MC, Schwartz JH., Thanos D, Kandel ER. *Integration of long-term memory-related synaptic plasticity involves bidirectional regulation of gene expression and chromatin structure*. Cell. 2002; 111: 483–493.
29. Alarcon JM, Malleret G, Touzani K, Vronskaya S, Ishii S, Kandel ER, Barco A. *Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP +/- mice: a model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration*. Neuron. 2004; 42 (6): 879–881.
30. Barco A, Patterson S, Alarcon JM, Gromova P, Mata-Roig M, Morozov A, Kandel ER. *Gene expression profiling of facilitated L-LTP in VP16-CREB mice reveals that BDNF is critical for the maintenance of LTP and its synaptic capture*. Neuron. 2005; 48 (1): 123–137.
31. Armstrong DD. *Can we relate MeCP2 deficiency to the structural and chemical abnormalities in the Rett brain?* Brain Dev. 2005 [E-pub ahead of print].
32. Armstrong DD, Dunn JK, Antalffy B, Trivedi R. *Selective dendritic alterations in the cortex of Rett syndrome*. J. Neuropathol. Exp. Neurol. 1995; 54: 195–201.
33. Belichenko PV, Oldfors A, Hagberg B, Dahlstrom A. *Rett syndrome: 3-D confocal microscopy of cortical pyramidal dendrites and afferents*. Neurorep. 1994; 5 (12): 1509–1513.
34. Matus A, Brinkhaus H, Wagner U. *Actin dynamics in dendritic spines: a form of regulated plasticity at excitatory synapses*. Hippocamp. 2000; 10 (5): 555–560.
35. Naidu S, Bibat G, Kratz L, Kelley RI, Pevsner J, Hoffman E, Cuffari C, Rohde C, Blue ME, Johnston MV. *Clinical variability in Rett syndrome*. J. Child. Neurol. 2003; 18 (10): 662–668.
36. Kaufmann WE, Johnston MV, Blue ME. *MeCP2 expression and function during brain development: implications for Rett syndrome's pathogenesis and clinical evolution*. Brain Dev. 2005 [E-pub ahead of print].
37. Johnston MV, Blue ME, Naidu S. *Rett syndrome and neuronal development*. J. Child. Neurol. 2005; 20 (9): 759–763.
38. Bauman ML, Kemper TL, Arin DM. *Pervasive neuroanatomic abnormalities of the brain in three cases of Rett's syndrome*. Neurol. 1995; 45 (8): 1581–1586.
39. Jellinger K, Seitelberger F. *Neuropathology of Rett syndrome*. Am. J. Med. Genet. 1986; 1: 259–288.
40. Fan G, Hutnick L. *Methyl-CpG binding proteins in the nervous system*. Cell Res. 2005; 15 (4): 255–261.
41. Kriaucionis S, Bird A. *DNA methylation and Rett syndrome*. Hum. Mol. Genet. 2003; 12: 221–227.
42. Zhao X, Ueba T, Christie BR, Barkho B, McConnell MJ, Nakashima K, Lein ES, Eadie BD, Willhoite AR, Muotri AR, Summers RG, Chun J, Lee KF, Gage FH. *Mice lacking methyl-CpG*

- binding protein 1 have deficits in adult neurogenesis and hippocampal function.* Proc. Nat. Acad. Sc. USA 2003; 100 (11): 6777–6782.
43. Fuks F, Hurd PJ, Wolf D, Nan X, Bird AP, Kouzarides T. *The methyl-CpG-binding protein MeCP2 links DNA methylation to histone methylation.* J. Biol. Chem. 2003; 278 (6): 4035–4040.
 44. Chen WG, Chan Q, Lin Y, Meissner A, West A E, Griffith EC, Jaenisch R, Greenberg ME. *Derepression of BDNF transcription involves calcium-dependent phosphorylation of MeCP2.* Science 2003; 302: 885–889.
 45. Martinowich K, Hattori D, Wu H, Fouse S, He F, Hu Y, Fan G, Sun YE. *DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent BDNF gene regulation.* Science 2003; 302 (5646): 890–893.
 46. Cho KS, Elizondo LI, Boerkoel CF. *Advances in chromatin remodeling and human disease.* Curr. Opin. Genet. Dev. 2004; 14 (3): 308–315.
 47. Baker-Herman TL, Fuller DD, Bavis RW, Zabka AG, Golder FJ, Doperalski NJ, Johnson RA, Watters JJ, Mitchell GS. *BDNF is necessary and sufficient for spinal respiratory plasticity following intermittent hypoxia.* Nat. Neurosc. 2004; 7 (1): 48–55.
 48. Julu PO, Kerr AM, Apartopoulos F, Al-Rawas S, Engerstrom IW, Engerstrom L, Jamal GA, Hansen S. *Characterisation of breathing and associated central autonomic dysfunction in the Rett disorder.* Arch. Dis. Child. 2001; 85: 29–37.
 49. Yamashita Y, Matsuishi T, Ishibashi M, Kimura A, Onishi Y, Yonekura Y, Kato H. *Decrease in benzodiazepine receptor binding in the brains of adult patients with Rett syndrome.* Neurol. Sc. 1998; 154 (2):146–150.
 50. Pescucci C, Meloni I, Renieri A. *Is Rett syndrome a loss-of-imprinting disorder?* Nat. Genet. 2005; 37: 10–11.
 51. Makedonski K, Abuhatzira L, Kaufman Y, Razin A, Shemer R. *MeCP2 deficiency in Rett syndrome causes epigenetic aberrations at the PWS/AS imprinting center that affects UBE3A expression.* Hum. Mol. Genet. 2005; 14 (8):1049–1058.
 52. Costello JF, Plass C. *Methylation matters.* J. Med. Genet. 2001; 38: 285–303.
 53. Abdolmaleky HM, Smith CL, Faraone SV, Shafa R, Stone W, Glatt SJ, Tsuang MT. *Methylomics in psychiatry: Modulation of gene-environment interactions may be through DNA methylation.* Am. J. Med. Genet. 2004; 15 (127): 51–59.
 54. Hartl D, Jones E, red. *Genetics: analysis of genes and genomes.* Sudbury, MA: Jones & Bartlett; 2001.
 55. Bass BL. *RNA editing and hypermutation by adenosine deamination.* Trends Biochem. Sc. 1997; 22: 157–162.
 56. Couzin J. *Breakthrough of the year: Small RNAs make big splash.* Science 2002; 298: 2296–2297.
 57. Bird A, Evans-Galea MV, Blankman E, Zhao H, Luo H, Winge DR, Eide DJ. *Mapping the DNA binding domain of the Zap1 zinc-responsive transcriptional activator.* J. Biol. Chem 2000; 275 (21): 16160–16166.
 58. Nan X, Bird A. *The biological functions of the methyl-CpG-binding protein MeCP2 and its implication in Rett syndrome.* Brain Dev. 2001; Suppl 1: 32–37.
 59. Cooper DN, Youssoufian H. *The CpG dinucleotide and human genetic disease.* Hum Genet. 1988; 78: 151–155.
 60. Badenhop RF, Moses MJ, Scimone A, Mitchell PB, Ewen-White KR, Rosso A, Donald JA, Adams LJ, Schofield PR. *A genome screen of 13 bipolar affective disorder pedigrees provides evidence for susceptibility loci on chromosome 3 as well as chromosomes 9, 13 and 19.* Mol Psychiatry 2004; 7: 594–603.
 61. Yen RWC, Vertino PM, Nelkin BD, Yu JJ, El-Deiry W, Kumaraswamy A, Lennon GG, Trask BJ, Celano P, Baylin SB. *Isolation and characterization of the cDNA encoding human DNA methyltransferase.* Nucl. Acids Res. 1992; 20: 2287–2291.

62. De Bona C, Zappella M, Hayek G, Meloni I, Vitelli F, Bruttini M, Cusano R, Loffredo P, Longo I, Renieri A. *Preserved speech variant is allelic of classic Rett syndrome*. Eur. J. Hum. Genet. 2000; 8: 325–330.
63. Nurnberger JI, Foroud T. *Genetics of bipolar affective disorder*. Curr. Psychiatry Rep. 2000; 2: 147–157.
64. Maziade M, Roy M, Rouillard E, Bissonnette L, Fournier JP, Roy A, Garneau Y, Montgrain N, Potvin A, Cliche D, Dion C, Wallot H, Fournier A, Nicole L, Lavallee JC, Merette C. *A search for specific and common susceptibility loci for schizophrenia and bipolar disorder: a linkage study in 13 target chromosomes*. Mol. Psychiatry 2001; 6: 684–693.
65. Vilain A, Apiou F, Dutrillaux B, Malfroy B. *Assignment of candidate DNA methyltransferase gene (DNMT2) to human chromosome band 10p15.1 by in situ hybridization*. Cytogenet. Cell Genet. 1998; 82: 120.
66. Robertson KD, Uzvolgyi E, Liang G, Talmadge C, Sumegi J, Gonzales FA, Jones PA. *The human DNA methyltransferases (DNMTs) 1, 3a and 3b, coordinate mRNA expression in normal tissues and overexpression in tumors*. Nucl. Acids Res. 1999; 27: 2291–2298.
67. Williams NM, Rees MI, Holmans P, Norton N, Cardno AG, Jones LA, Murphy KC, Sanders RD, McCarthy G, Gray MY, Fenton I, McGuffin P, Owen MJ. *A two-stage genome scan for schizophrenia susceptibility genes in 196 affected sibling pairs*. Hum. Mol. Genet. 1999; 8: 1729–1739.
68. Xie S, Wang Z, Okano M, Nogami M, Li Y, He WW, Okumura K, Li E. *Cloning, expression and chromosome locations of the human DNMT3 gene family*. Genet. 1999; 236: 87–95.
69. Berrettini WH. *Molecular linkage studies of bipolar disorders*. Bipolar Disord. 2001; 3: 276–283.
70. Hendrich B, Abbott C, McQueen H, Chambers D, Cross S, Bird A. *Genomic structure and chromosomal mapping of the murine and human Mbd1, Mbd2, Mbd3, and Mbd4 genes*. Mamm. Gen. 1999; 10: 906–912.
71. Van Broeckhoven C, Verheyen G. *Report of the chromosome 18 workshop*. Am. J. Med. Genet. 1999; 88: 263–270.
72. Dong E, Agis-Balboa RC, Simonini MV, Grayson DR, Costa E, Guidotti A. *Reelin and glutamic acid decarboxylase 67 promoter remodeling in an epigenetic methionine-induced mouse model of schizophrenia*. Proc. Nat. Acad. Sc. USA 2005; 102 (35): 12578–12583.
73. Petronis A. *The genes for major psychosis: aberrant sequence or regulation?* Neuropsychopharmacol. 2000; 23: 1–12.
74. Polesskaya OO, Sokolov BP. *Differential expression of the „C” and „T” alleles of the 5-HT2A receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics*. J. Neurosc. Res. 2002; 67: 812–822.
75. Tohgi H, Utsugisawa K, Nagane Y, Yoshimura M, Ukitsu M, Genda Y. *The methylation status of cytosines in a tau gene promoter region alters with age to downregulate transcriptional activity in human cerebral cortex*. Neurosc. Lett. 1999; 275: 89–92.
76. Manev H, Uz T. *DNA hypomethylating agents 5-aza-2'-deoxycytidine and valproate increase neuronal 5-lipoxygenase mRNA*. Eur. J. Pharmacol. 2002; 445: 149–150.
77. Phiel CJ, Zhang F, Huang EY, Guenther MG, Lazar MA, Klein PS. *Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen*. J. Biol. Chem. 2001; 276 (39): 36734–36741.
78. Van den Veyver IB. *Genetic effects of methylation diets*. Ann. Rev. Nutr. 2002; 22: 255–282.
79. Young SN, Ghadirian AM. *Folic acid and psychopathology*. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 1989; 13: 841–863.

80. Valinluck V, Tsai HH, Rogstad DK, Burdzy A, Bird A, Sowers LC. *Oxidative damage to methyl-CpG sequences inhibits the binding of the methyl-CpG binding domain (MBD) of methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2)*. Nucleic Acids Res. 2004; 32 (14): 4100–4108.
81. Riccio A, Aaltonen LA, Godwin AK, Loukola A, Percesepe A, Salovaara R, Masciullo V, Genuardi M, Paravatou-Petsotas M, Bassi DE, Ruggeri BA, Klein-Szanto AJP, Testa JR, Neri G, Bellacosa A. *The DNA repair gene MBD4 (MED1) is mutated in human carcinomas with microsatellite instability*. Nature Genet. 1999; 23: 266–268.
82. D'Esposito M, Quaderi NA, Ciccodicola A, Bruni P, Esposito T, D'Urso M, Brown SD. *Isolation, physical mapping, and Northern analysis of the X-linked human gene encoding methyl CpG-binding protein, MECP2*. Mammalian Genome 1996; 7: 533.
83. Kriaucionis S, Bird A. *The major form of MeCP2 has a novel N-terminus generated by alternative splicing*. Nucleic Acids Res. 2004; 32 (5): 1818–1823.
84. Mnatzakanian GN, Lohi H, Munteanu I, Alfred SE, Yamada T, MacLeod PJ, Jones JR, Scherer SW, Schanen NC, Friez MJ, Vincent JB, Minassian BA. *A previously unidentified MECP2 open reading frame defines a new protein isoform relevant to Rett syndrome*. Nat. Genet. 2004; 36 (4): 339–341.
85. Kaludov NK, Wolffe AP. *MeCP2 driven transcriptional repression in vitro: selectivity for methylated DNA, action at a distance and contacts with the basal transcription machinery*. Nucleic Acids Res. 2000; 28:1921–1928.
86. Buschdorf JP, Stratling WH. *A WW domain binding region in methyl-CpG-binding protein MeCP2, impact on Rett syndrome*. J. Mol. Med. 2004; 82 (2):135–143.
87. Zappella M. *The Rett girls with preserved speech*. Brain Dev. 1992; 14: 98–101.
88. Zappella M, Meloni I, Longo I, Hayek G, Renieri A. *Preserved speech variants of Rett syndrome: Molecular and clinical analysis*. Am. J. Med. Genet. 2001; 104 (1): 14–22.
89. Carney RM, Wolpert CM, Ravan SA, Shahbazian M, Ashley-Koch A, Cuccaro ML, Vance JM, Pericak-Vance M. *A identification of MECP2 mutations in a series of females with autistic disorder*. Pediatr. Neurol. 2003; 28 (3): 205–211.
90. Shibayama A, Cook EH Jr, Feng J, Glanzmann C, Yan J, Craddock N, Jones IR, Goldman D, Heston LL, Sommer SS. *MECP2 structural and 3'-UTR variants in schizophrenia, autism and other psychiatric diseases: a possible association with autism*. Am. J. Med. Genet. 2004; 128B: 50–53.
91. Watson P, Black G, Ramsden S, Barrow M, Super M, Kerr B, Clayton-Smith J. *Angelman syndrome phenotype associated with mutations in MECP2, a gene encoding a methyl CpG binding protein*. J. Med. Genet. 2001; 38: 224–228.
92. Yntema HG, Oudakker AR, Kleefstra T, Hamel BC, van Bokhoven H, Chelly J, Kalscheuer VM, Fryns JP, Raynaud M, Moizard MP, Moraine C. *In-frame deletion in MECP2 causes mild nonspecific mental retardation*. Am. J. Med. Genet. 2002; 107 (1): 13–15.
93. Uścińska E, Skawrońska M, Midro AT. *Poradnictwo genetyczne w zespole Retta. Część III. Korelacja fenotypowo-genotypowa*. Przegl. Pediatr. 2005; 35 (1), 37–47.
94. LaSalle JM, Goldstine J, Balmer D, Greco CM. *Quantitative localization of heterogeneous methyl-CpG-binding protein 2 (MeCP2) expression phenotypes in normal and Rett syndrome brain by laser scanning cytometry*. Hum. Molec. Genet. 2001; 10: 1729–1740.
95. Stancheva I, Collins AL, Van den Veyver IB, Zoghbi H, Meehan RR. *A mutant form of MeCP2 protein associated with human Rett syndrome cannot be displaced from methylated DNA by notch in Xenopus embryos*. Mol. Cell 2003; 12 (2): 425–435.
96. Fukuda T, Itoh M, Ichikawa T, Washiyama K, Goto Y. *Delayed maturation of neuronal architecture and synaptogenesis in cerebral cortex of Mecp2-deficient mice*. J. Neuropathol. Exp. Neurol. 2005; 64 (6): 537–544.
97. Amir RE, Van den Veyver IB, Schultz R, Malicki DM, Tran CQ, Dahle EJ, Philippi A, Timar L, Percy AK, Motil KJ, Lichtarge O, Smith EO, Glaze DG, Zoghbi HY. *Influence of mutation*

- type and X chromosome inactivation on Rett syndrome phenotypes.* Ann. Neurol. 2000; 47: 670–679.
98. Sirianni N, Naidu S, Pereira J, Pillotto RF, Hoffman EP. *Rett syndrome: confirmation of X-linked dominant inheritance, and localization of the gene to Xq28.* Am. J. Hum. Genet. 1998; 63: 1552–1558.
 99. Watson CM, Pelka GJ, Radziewicz T, Shahbazian MD, Christodoulou J, Williamson SL, Tam PP. *Reduced proportion of Purkinje cells expressing paternally derived mutant Mecp2308 allele in female mouse cerebellum is not due to a skewed primary pattern of X-chromosome inactivation.* Hum. Mol. Genet. 2005;14 (13): 1851–1861.
 100. Faraone SV, Matisse T, Svrakic D, Pepple J, Malaspina D, Suarez B, Hampe C, Zambuto CT, Schmitt K, Meyer J, Markel P, Lee H, Harkavy Friedman J, Kaufmann C, Cloninger CR, Tsuang MT. *Genome scan of European-American schizophrenia pedigrees: results of the NIMH Genetics Initiative and Millennium Consortium.* Am. J. Med. Genet. 1998; 81: 290–295.
 101. Shinkai T, Ohmori O, Hori H, Nakamura J. *Allelic association of the neuronal nitric oxide synthase (NOS1) gene with schizophrenia.* Mol. Psychiatry 2002; 7: 560–563.
 102. Leveque C, Elba A, Clavel J, Richard F, Vidal J-S, Amouyel P, Tzourio C, Alperovitch A, Chartier-Harlin M-C. *Association between Parkinson's disease and polymorphisms in the nNOS and iNOS genes in a community-based case-control study* Hum. Mol. Gen. 2003; 12 (1): 79–86.
 103. Xu W, Gorman P, Sheer D, Bates G, Kishimoto J, Lizhi L, Emson P. *Regional localization of the gene coding for human brain nitric oxide synthase (NOS1) to 12q24.2→24.31 by fluorescent in situ hybridization.* Cytogenet. Cell Genet. 1993; 64: 62–63.
 104. Aapola U, Shibuya K, Scott HS, Ollila J, Vihinen M, Heino M, Shintani A, Kawasaki K, Minoshima S, Krohn K, Antonarakis SE, Shimizu N, Kudoh J, Peterson P. *Isolation and initial characterization of a novel zinc finger gene, DNMT3L, on 21q22.3, related to the cysteine-5-methyltransferase 3 gene family.* Genomics 2000; 65: 293–298.
 105. Hagberg B, Skjeldal OH. *Rett variants: a suggested model for inclusion criteria.* Pediatr. Neurol. 1994; 11: 5–11.

Dane elektroniczne

- OMIM – Online Mendelian Inheritance in Man, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/> (for RTT [MIM 312750] and MeCP2 [MIM 300005])
- www.mecp2.chw.edu.au

Adres: Alina T. Midro
Zakład Genetyki Klinicznej Akademii Medycznej
15-089 Białystok 8, ul. Waszyngtona 13, skr. poczt. 22

Otrzymano: 27.06.2005
Zrecenzowano: 2.11.2005
Przyjęto do druku: 12.05.2006