

Molekulární patologie Rettova syndromu

Abstrakt

Rettův syndrom (RTT) je závažné X-vázané neurovývojové onemocnění postihující téměř výlučně dívky. Onemocnění je charakterizováno regresem psychomotorického vývoje, zhoršením nebo ztrátou řeči a jemné motoriky, získanou mikrocefálií, stereotypními pohyby rukou a epileptickými záchvaty. Většina případů RTT je způsobena *de novo* mutacemi v *MECP2* genu kódujícím metyl-CpG-vazební protein 2 (MeCP2). MeCP2 protein sehrává důležitou funkci v regulaci genové exprese, chromatinové remodelaci a také je zapojen do procesu sestřihu RNA. Atypické varianty RTT s těžším průběhem příznaků (varianta se záchvaty s časným nástupem a kongenitální varianta) mohou být také způsobeny mutacemi v genech *CDKL5* a *FOXG1*, případně dalších.

Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch na Klinice dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN je jediným centrem pro DNA diagnostiku RTT v České republice. Proto je dizertační práce zacílená především na zdokonalení molekulární diagnostiky RTT dle současných vědeckých poznatků. Zavedli jsme analýzu rozsáhlých delecí a duplikací pomocí metody MLPA (multiplexní, na ligaci závislá amplifikace prob). Pomocí kombinace sekvenční analýzy kódující sekvence *MECP2* genu a MLPA jsme u 80 pacientek prokázali přítomnost kauzální mutace, z toho 11 mutací bylo nových, dosud nepopsaných. Dále jsme zavedli mutační analýzu *CDKL5* genu, genu odpovědného za atypickou variantu RTT se záchvaty s časným nástupem. Analýza *CDKL5* genu je nyní dostupná také pacientům s časnou epileptickou encefalopatií typu 2. Pro oba geny jsme zoptimalizovali a validovali rychlou, ekonomicky i technicky nenáročnou skriningovou metodu, analýzu křivek tání s vysokým rozlišením (HRM).

Závažnost klinických příznaků RTT je značně variabilní. Hlavními faktory jsou především typ a pozice kauzální *MECP2* mutace a také stav inaktivace chromozomu X (XCI). Naše výsledky potvrzují, že jisté *MECP2* mutace častěji vedou k mírnějšímu nebo naopak závažnějšímu fenotypu. Vzhledem k tomu, že kauzální mutace ani XCI často nedokážou vysvětlit všechny případy variability RTT, je nutné uvažovat i o dalších modulačních faktorech. Vytipovali a analyzovali jsme několik potenciálních modulačních genů a prokázali jsme, že především alela $\epsilon 4$ genu *APOE* je velmi perspektivním kandidátem. U našich pacientek s potvrzeným RTT byla asociována se signifikantně časnějším nástupem regresu psychomotorického vývoje.

Pochopení vztahů mezi klinickou manifestací onemocnění, základní kauzální mutací a modulačními faktory vnese víc světla do patogeneze RTT a nastíní přibližný očekávaný progres klinických příznaků. Také může pomoci při zavedení efektivní specifické podpůrné terapie.