

Artículo de revisión

Síndrome de Rett: aspectos generales y relevancia para el estudio de desórdenes del neurodesarrollo

(Rett Syndrome: general aspects and significance for the study of neuro development disorders)

Por Biól. María Inés Zalosnik Figueroa, Biól. María Laura Bertoldi y Dra. Alicia L. Degano

adegano@fcq.unc.edu.ar

Integrantes del CIQUIBIC (CONICET), Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Resumen:

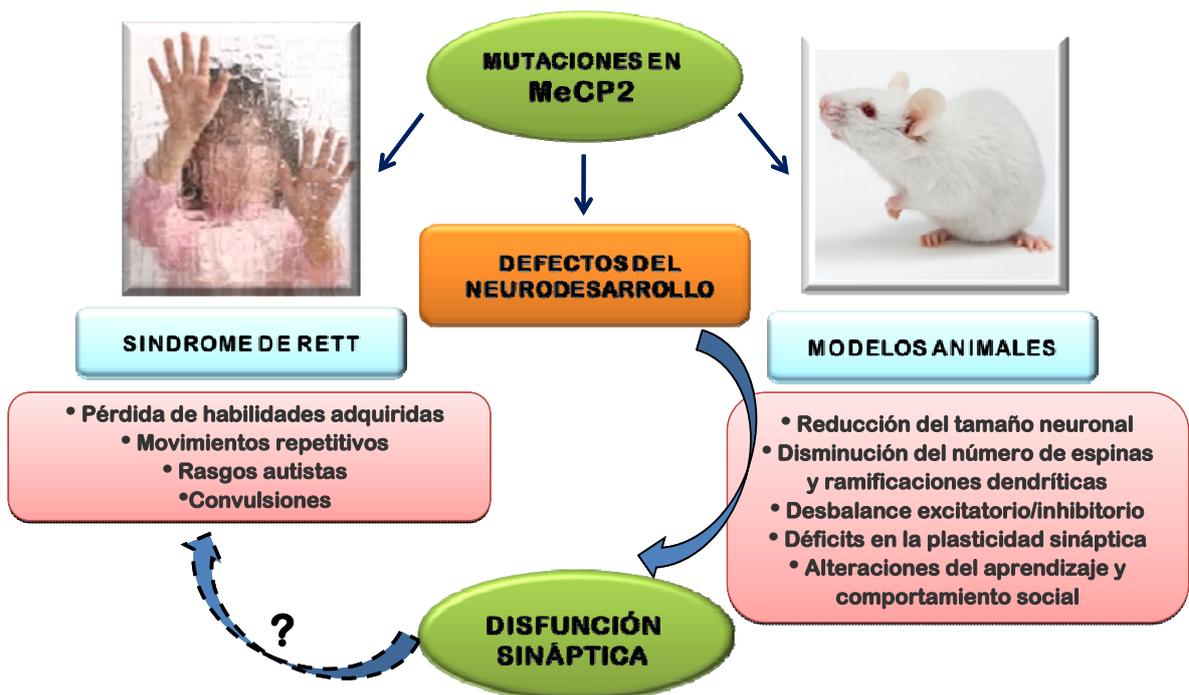
El Síndrome de Rett (RTT) es uno de los pocos desórdenes del espectro autista de origen conocido. La principal causa de RTT consiste en mutaciones en la proteína unidora de metil-CpG 2 (MeCP2). Esta proteína es un miembro de la familia de proteínas unidoras de metil-CpG en el ADN que se unen a promotores de genes y regulan su expresión. Alteraciones en esta proteína también se han encontrado en pacientes con autismo o con desórdenes del aprendizaje, lo cual sugiere que esta proteína juega un papel importante en el neurodesarrollo. El entendimiento de los mecanismos patológicos que llevan a este síndrome sería de gran importancia para conocer las bases del autismo y otras patologías del neurodesarrollo y para el desarrollo de terapias.

Abstract:

Rett Syndrome is an autism spectrum disorder caused by mutations in Methyl CpG binding protein 2 (MeCP2). This protein belongs to the family of methyl binding proteins that regulate chromosomal architecture and gene expression. Abnormal levels of MeCP2 have been also associated with autism and learning disabilities, suggesting that this protein plays an important role in the nervous system. Understanding the pathogenic mechanisms underlying this syndrome would have important implications for autism and other neurodevelopmental disorders.

Palabras claves/Key words: neurodesarrollo, desórdenes del espectro autista, /neurodevelopment, autism spectrum disorders

Resumen gráfico



EL síndrome de Rett (RTT), originalmente descrito por el pediatra austríaco Andreas Rett en el año 1966, es un desorden postnatal progresivo del neurodesarrollo que afecta principalmente a niñas con una frecuencia de 1:10000 a 1:20000 nacimientos (1). Este trastorno forma parte del grupo de desórdenes del espectro autista (ASD, Autism Spectrum Disorders), el cual incluye a varias patologías diferentes que comparten las características que definen al autismo (alteraciones en la comunicación verbal y no verbal, interacción social y comportamientos repetitivos), pero que presentan un espectro muy variable de severidad y evolución. Mientras algunos ASD se asocian, por ejemplo, con discapacidad intelectual, dificultad en la atención y en la coordinación motriz, otros pacientes demuestran habilidades extraordinarias para la música, el arte, las matemáticas o el lenguaje (2).

La etiología de los ASDs es desconocida, y probablemente sea el resultado de una variedad de interacciones genéticas, neurológicas, ambientales e inmunológicas que conducen a la expresión de un fenotipo general de comportamiento definido como ASD (2). Una de las principales limitaciones para el estudio de estas patologías es que presentan una alta heterogeneidad clínica y genética. En este sentido, el Síndrome de Rett es uno de los pocos ASDs de origen monogénico conocido. En 1999 se describió que la principal causal de RTT consiste en mutaciones en la proteína unidora de metil-CpG 2 (MeCP2). Este descubrimiento ayudó a explicar la evidente prevalencia de RTT en mujeres, ya que se determinó que el gen que codifica a MeCP2 se localiza en el cromosoma X (3).

Desde el punto de vista clínico, pacientes con este síndrome muestran un desarrollo aparentemente normal hasta los 6 y 18 meses de edad a partir del cual acontece un periodo de regresión del desarrollo manifestándose apraxia, movimientos compulsivos de manos con pérdida de movimientos voluntarios, rasgos de autismo y, en algunos casos, retraso mental (4). Además, pueden manifestarse otras características clínicas que incluyen convulsiones, disfunción autónoma, problemas respiratorios, escoliosis y afecciones cardíacas que pueden llevar a la muerte repentina (5).

RTT afecta el desarrollo del cerebro durante las fases más dinámicas del crecimiento y establecimiento de la conectividad. La patología se caracteriza por una disminución del tamaño cerebral con aumento de la densidad celular. No se han observado malformaciones, anomalías en mielina, acumulación de metabolitos o signos de

neurodegeneración (6). El aspecto más notorio observado en la examinación de cerebros post-mortem, es la reducción en las ramificaciones dendríticas y en el tamaño neuronal (7). Asimismo, se ha detectado una disminución de la expresión de MAP-2 (microtubule-associated protein 2) en corteza y una reducción en el número de espinas dendríticas en neuronas piramidales, lo que sugiere un exceso de refinamiento sináptico. También se han descrito cambios neuroquímicos en receptores dopaminérgicos, colinérgicos, y de aminoácidos excitatorios (8). A partir de los estudios que existen hasta el momento, se considera que la patogénesis del síndrome de RTT es originada por defectos que ocurren durante el neurodesarrollo, que conducen a alteraciones persistentes en la función sináptica y en el comportamiento.

Genética de RTT. Más del 90% de los pacientes con características de RTT tienen mutaciones en el gen *Mecp2* que se encuentra en el cromosoma Xq28. Se han descrito más de 300 mutaciones diferentes en las regiones codificantes de MeCP2, que originan truncamientos, corrimientos del marco de lectura, deleciones y duplicaciones de la totalidad o parte del gen (5). Alrededor del 99% de los casos de RTT son esporádicos. El trastorno afecta principalmente a mujeres, pero se hace presente en hombres en casos de mosaiquismo gonadal. El impacto de las mutaciones en MeCP2 se infiere de los pocos casos masculinos de RTT; estos niños manifiestan una encefalopatía severa y una corta sobrevida (5). Se ha demostrado que tanto la deficiencia como la sobreexpresión de MeCP2 causan neuropatología (9). Este hallazgo indica que la terapia génica no sería factible, ya que MeCP2 debe ser finamente regulada. Por eso es imperioso entender las bases celulares y moleculares de la disfunción neuronal inducida por mutaciones en MeCP2, a fin de proveer otras opciones terapéuticas.

Estructura y función de MeCP2. MeCP2 es una proteína nuclear asociada a cromatina, que se une con alta afinidad a sitios CpG metilados del ADN de mamíferos y actúa como factor de transcripción, regulando la expresión de genes blanco (10). Posee dos dominios funcionales importantes: el dominio de unión a metil-CpG (MBD) y el dominio de represión transcripcional (TRD). El dominio MBD de MeCP2 se une a sitios CpG-metilados en regiones específicas del ADN. Por su parte, el sitio TRD de MeCP2 recluta co-represores, complejos de histonas deacetilasas (como Sin3A-HDAC) y proteínas remodeladoras que provocan la compactación de la

cromatina, haciendo los sitios promotores inaccesibles para los miembros de la maquinaria de transcripción. Se ha demostrado *in vitro*, que la actividad neuronal aumenta la fosforilación de MeCP2 (11), lo que lleva a la liberación de la represión de genes blanco (por ej. BDNF), aumentando así la expresión de los mismos (Fig. 1A).

Si bien inicialmente MeCP2 fue descrita como un represor transcripcional, se ha descrito que también podría actuar como un activador transcripcional por asociación con un co-activador como CREB (12). Asimismo se ha demostrado que regula el splicing alternativo de ARNs al asociarse a la proteína YB1 (Y-box binding protein). A partir de estos hallazgos se ha establecido que MeCP2 regula la arquitectura de la cromatina de una manera compleja, dependiendo con que moléculas se asocia y qué tipo de interacciones se producen entre las mismas.

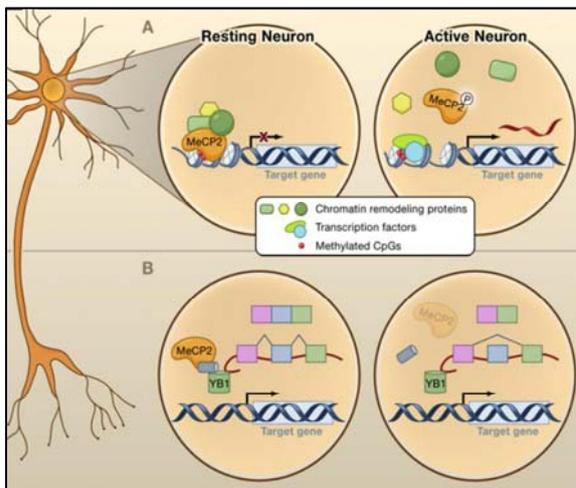


Fig. 1. Modelo del mecanismo de acción de MeCP2 en una neurona en reposo y activa (Tomado de Chahrouh y Zoghbi, 2007).

Expresión de MeCP2 en el neurodesarrollo. El hallazgo de que mutaciones en MeCP2 causan RTT, reveló la importancia de este factor transcripcional para la función neuronal. MeCP2 se encuentra en todos los vertebrados y está altamente conservada entre los mamíferos (4). Esta proteína se expresa en una gran variedad de tejidos siendo el cerebro uno de los sitios en la que más abunda. Tanto en humanos como en ratones, los niveles de MeCP2 son relativamente bajos al nacimiento y van aumentando con el desarrollo y la maduración neuronal (13).

Debido a que RTT se manifiesta durante el desarrollo posnatal temprano, se cree que la función de MeCP2 es crítica para la maduración

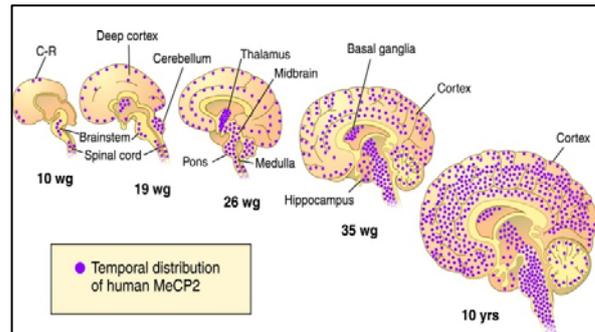


Fig. 2. Patrón temporal y espacial de expresión de MeCP2 en el cerebro humano (Tomado de Zoghbi, 2003)

normal del sistema nervioso. Sin embargo, trabajos recientes han demostrado que la eliminación de MeCP2 durante la vida adulta puede recapitular múltiples aspectos de la enfermedad en modelos murinos (14). Del mismo modo, la reactivación de MeCP2 en ratones sintomáticos que carecen de esta proteína, rescata varios fenotipos clínicos (15). Estos hallazgos sugieren que la función de MeCP2 es necesaria para mantener la conectividad neuronal, incluso en el adulto.

Modelos animales de RTT. Con el fin de elucidar el papel de MeCP2 en el neurodesarrollo, se han generado modelos animales que carecen de MeCP2 o expresan una proteína MeCP2 mutada. Los modelos de ratón desarrollados incluyen: "knockouts" constitutivos de MeCP2, ratones que expresan una mutación o una forma truncada de esta proteína; ratones que sobre expresan MeCP2, que portan mutaciones en sitios de fosforilación específicos de MeCP2, así como varios "knockouts" condicionales en poblaciones neuronales específicas. Estos animales comparten varios de los aspectos presentes en la patología humana y son herramientas valiosas para la comprensión de cómo mutaciones en MeCP2 afectan el desarrollo neurológico, y para el estudio de posibles intervenciones terapéuticas (16)

MeCP2 en la función neural. MeCP2 se expresa principalmente en neuronas maduras y se ha propuesto que su función primaria es regular la expresión de genes claves para el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso. Al respecto, se han reportado numerosos genes blanco que son regulados directamente por MeCP2, incluyendo factores de crecimiento como BDNF y IGF2, factores de diferenciación neural, componentes de señalización celular e incluso de la cadena respiratoria (17). Sin embargo, análisis globales de la expresión génica en modelos animales de RTT no

muestran cambios importantes en la expresión de genes puntuales, sino diferencias generalizadas de baja magnitud en diversas vías celulares. Por ello, aún no se ha podido establecer cuál o cuales son los defectos primarios por los cuales la expresión anormal de MeCP2 altera la función neural.

Estudios realizados en modelos deficientes o mutantes para MeCP2 *in vitro* e *in vivo* indican que esta proteína es necesaria para el normal desarrollo y mantenimiento de la conectividad neural. En particular, se ha demostrado que la falta de MeCP2 no afecta la diferenciación y la proliferación neuronal, pero que es importante para los procesos de: maduración neuronal (18), crecimiento y morfología de dendritas (19), guiado axonal (20), formación y refinamiento de sinapsis y para la regulación de la neurotransmisión (21). Alteraciones en estos procesos han sido asociados con déficits de aprendizaje y memoria, como así también con un comportamiento social anormal en modelos animales de RTT (22).

Conclusiones

El descubrimiento de que mutaciones en MeCP2 causan RTT, reveló la importancia de este factor transcripcional para la función neuronal. Asimismo, alteraciones en los niveles de esta proteína se han asociado a un espectro de fenotipos neuropsiquiátricos, incluyendo déficits de aprendizaje, retraso mental y autismo. El entendimiento de las bases moleculares por las cuales alteraciones en la función de MeCP2 afecta la fisiología del sistema nervioso será de gran importancia para entender las bases de estos desórdenes y orientar el desarrollo de terapias.

Bibliografía

- 1- Rett, A., Rett syndrome. History and general overview. *Am J Med Genet Suppl* (1986) 1: 21-25.
- 2- Volkmar FR, Reichow B, McPartland J. Classification of autism and related conditions: progress, challenges, and opportunities. *Dialogues Clin Neurosci* (2012) 14:229-237.
- 3- Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl CpG-binding protein 2. *Nat Genet* (1999) 23:185-188
- 4- Guy J, Cheval H, Selfridge J and Bird A. The role of MeCP2 in the brain. *Annu Rev Cell Dev Biol* (2011) 27: 631-652.
- 5- Chahrour M, Zoghbi H. The story of Rett syndrome: from clinic to neurobiology. *Neuron* (2007) 56, 422-437.
- 6- Armstrong, D. Rett syndrome neuropathology review 2000. *Brain Dev* (2001) 23: S72-76.

- 7- Samaco RC, Neul JL. Complexities of Rett syndrome and MeCP2. *J Neurosci* (2012) 31: 7951-7959.

- 8- Johnston MV, Hohmann C, Blue ME. Neurobiology of rett syndrome. *Neuropediatrics*. (1995) 26:119-122.

- 9- Collins AL, Levenson JM, Vilaythong AP, Richman R, Armstrong DL, Noebels JL, David Sweatt J and Zoghbi HY. Mild overexpression of MeCP2 causes a progressive neurological disorder in mice. *Hum Mol Genet* (2004). 13: 2679–2689.

- 10- Nan X, Campoy FJ, and Bird A. MeCP2 is a transcriptional repressor with abundant binding sites in genomic chromatin. *Cell* (1997) 88: 471–481.

- 11- Chen WG, Chang Q, Lin Y, Meissner A, West AE, Griffith EC, Jaenisch R and Greenberg ME. Derepression of BDNF transcription involves calcium-dependent phosphorylation of MeCP2. *Science* (2003) 302: 885–889.

- 12- Chahrour M, Jung SY, Shaw C, Zhou X, Wong ST, Qin J, Zoghbi HY. MeCP2, a key contributor to neurological disease, activates and represses transcription. *Science* (2008) 320:1224-1229.

- 13- Na ES and Monteggia LM. The role of MeCP2 in CNS development and function. *Horm Behav* (2011) 59: 364-368.

- 14- Nguyen MV, Du F, Felice CA, Shan X, Nigam A, Mandel G, Robinson JK, Ballas N. Mecp2 is critical for maintaining mature neuronal networks and global brain anatomy during late stages of postnatal brain development and in the mature adult brain. *J Neurosci* (2012) 32:10021-10034.

- 15- Guy J, Gan J, Selfridge J, Cobb S, Bird A. Reversal of neurological defects in a mouse model of rett syndrome. *Science*. (2007) 315:1143-1147

- 16- Calfa G, Percy AK, Pozzo-Miller L. Experimental models of Rett syndrome based on Mecp2 dysfunction. *Exp Biol Med* (Maywood). (2011) 236:3-19.

- 17- Singh J, Saxena A, Christodoulou J, Ravine D. MECP2 genomic structure and function: insights from ENCODE. *Nucleic Acids Res* (2008) 36:6035-6047.

- 18- Matarazzo V, Cohen D, Palmer AM, Simpson PJ, Khokhar B, Pan SJ, Ronnett GV. The transcriptional repressor Mecp2 regulates terminal neuronal differentiation. *Mol Cell Neurosci* (2004) 27:44-58.

- 19- Belichenko PV, Wright EE, Belichenko NP, Masliah E, Li HH, Mobley WC, Francke U. Widespread changes in dendritic and axonal morphology in Mecp2-mutant mouse models of Rett syndrome: evidence for disruption of neuronal networks. *J Comp Neurol* (2009) 514: 240–258.

20- Degano AL, Pasterkamp RJ, Ronnett GV. Mecp2 deficiency disrupts axonal guidance, fasciculation, and targeting by altering semaphorin 3F function. *Mol Cell Neurosci* (2009) 42:243-254

21- Monteggia, L. M. and E. T. Kavalali. Rett Syndrome and the impact of MeCP2 associated transcriptional mechanisms on neurotransmission. *Biol Psychiatry* (2009) 65: 204-210.

22- Moretti P, Levenson JM, Battaglia F, Atkinson R, Teague R, Antalffy B, Armstrong D, Arancio O, Sweatt JD, Zoghbi HY. Learning and memory and synaptic plasticity are impaired in a mouse model of Rett syndrome. *J Neurosci.* (2006) 26:319-327.