

As Veredas da Síndrome de Rett: Do Diagnóstico Clínico aos Estudos Funcionais

Fernando Kok

Livre-Docente em Neurologia Infantil, Faculdade de Medicina da USP,
Médico Pesquisador do Centro de Estudos do Genoma Humano da USP, São Paulo-SP, Brasil.

Neste número da “**Revista Neurociências**”, Splendore et al.¹ apresentam estudo feito em um único centro do Brasil a respeito do diagnóstico molecular da síndrome de Rett. Este estudo, realizado ao longo de seis anos, incluiu 139 pacientes com esta suspeita diagnóstica e encontrou mutações patogênicas em 59 deles.

A síndrome de Rett (RTT) é uma condição geneticamente determinada decorrente de mutação no gene *MECP2*, localizado no cromossomo X, que afeta de forma quase exclusiva indivíduos do sexo feminino, levando a um grave comprometimento cognitivo e motor. Por muitos anos, o diagnóstico da RTT baseou-se no reconhecimento de elementos puramente clínicos e que levava em conta a existência de um desenvolvimento inicial normal, seguido por involução de habilidades previamente adquiridas, tais como uso de mãos e vocalização com intenção de comunicação. A característica clínica mais típica desta condição era o aparecimento de movimentos estereotipados, incansáveis, envolvendo especialmente os membros superiores, em particular as mãos. Os movimentos foram comparados com os de esfregar, lavar e bater. Junto com isto, havia uma perda do uso das mãos para, por exemplo, brincar ou pegar um objeto, e uma grande tendência a levar as mãos à boca.

A causa da RTT permaneceu envolta em mistério por muitos anos, até que em 1999, o grupo de investigadores liderados por Hudda Zoghbi, da Universidade Baylor, identificou que alterações no gene *MECP2*, localizado na sub-região q28 do cromossomo X, era responsável pela síndrome de Rett². Acredita-se que o produto deste gene está envolvido com a adição de grupos metila nos nucleotídeos do DNA, e desta forma controla a expressão de diversos outros genes, uma vez que há uma relação inversa entre a intensidade de metilação e a ex-

pressão de um gene. Conforme demonstram estudos recentes, na ausência do produto de *MECP2*, uma cascata de eventos determina a perda da estabilidade das sinapses, do padrão de disparo dos neurônios e da interconectividade neuronal³.

Com a identificação do gene, tornou-se possível reconhecer que o fenótipo associado a mutações do gene *MECP2* era mais abrangente do que se imaginava inicialmente, embora as manifestações clínicas características sugiram o diagnóstico em grande número de pacientes. A quase totalidade dos casos de RTT decorre de uma mutação que ocorre *de novo*, isto é, não está presente nos genitores. A taxa de mutação de *MECP2* é muito maior na meiose paterna do que na materna, o que explica a ocorrência destes sintomas quase exclusivamente no sexo feminino, ou, alternativamente, em indivíduos que possuam dois cromossomos X (o que inclui pacientes com síndrome de Klinefelter). Um desafio para o entendimento da relação genótipo-fenótipo na RTT é que a alteração afeta apenas uma, das duas cópias do gene *MECP2* presentes nas mulheres. Sabe-se ainda que em cada célula, apenas um cromossomo X encontra-se ativo, sendo que o outro é silenciado em fases precoces da vida embrionária. Desta forma, o fenótipo Rett é dependente *não apenas* da presença de mutação em *MECP2*, *mas também da razão de inativação do cromossomo X*. Em outras palavras, da proporção de células que tem ativo o cromossomo X com mutação em *MECP2*, comparada com a que tem o cromossomo X normal.

A experiência do Centro de Estudos do Genoma Humano do IBUSP com o diagnóstico molecular da síndrome de Rett é, certamente, a maior do Brasil, e as informações obtidas deste estudo são bastante relevantes:

1. Mais de 10 anos após a identificação de *MECP2*

como responsável pela RTT, mutações que nunca foram previamente descritas seguem sendo identificadas, como ocorreu em 8 dos 59 pacientes que tiveram diagnóstico confirmado neste estudo.

2. Mesmo considerando que apenas cinco mutações respondem por 55% dos casos de RTT, o sequenciamento completo de *MECP2* é a estratégia indicada de investigação. Frente a um caso suspeito de RTT, este é o exame que deve ser solicitado.

3. A taxa de casos positivos, de cerca de 43%, pode parecer reduzida, mas tendo em vista a grande variabilidade fenotípica da doença, é plenamente justificável. A utilização de técnicas complementares, para detectar deleções extensas, afetando um ou mais éxons ou mesmo uma cópia completa do gene, conforme apontado pelos autores, deverá aumentar ainda mais a capacidade de se detectar anormalidades em *MECP2*.

E o que há de novo nesta área?

A dose do produto de *MECP2* tem que ser exata: a perda de função de uma cópia do gene é catastrófica em indivíduos do sexo masculino, levando a uma encefalopatia crônica precoce e grave, com epilepsia grave e alta mortalidade nos primeiros anos de vida, o que é bastante diferente do que se observa no sexo feminino. E meninas que possuam duas cópias ativas de *MECP2* (na maior parte das vezes por duplicação da região cromossômica que aloja este gene) apresentam uma encefalopatia precoce e grave, com crises epiléticas de difícil controle medicamentoso e distúrbios de motilidade digestiva e vesical.

Estudos realizados em fêmeas de camundongos geneticamente modificados em que se anulava a função de uma das cópias de *MECP2* (*knock-out*) foi capaz de reproduzir com muita elegância o fenótipo Rett, inclusive com presença de estereotípias dos membros anteriores⁴. E também pesquisas que produziram *knock-out* condicionais, que são aqueles que temporariamente anulam a função do gene, mostraram a potencial reversibilidade dos sintomas, com o “religamento do gene”⁵.

Recentemente, pesquisa conduzida pelo grupo de Alysson Muotri³, da Universidade da Califórnia em San Diego, utilizando neurônios gerados a partir de células-tronco pluripotenciais indutíveis (iPSC), gerados a partir de fibroblastos de pacientes com RTT, demonstrou claramente que a manutenção das conexões entre os neurônios encontra-se comprometida, com perda significativa da riqueza sináptica. Ao mesmo tempo, observou que o uso de IGF-1 (*insulin-like growth factor 1*) antagoniza parcialmente o defeito observado na manutenção sináptica, abrindo caminho para a realização de um ensaio clínico deste fator de crescimento em meninas com RTT.

Trinta e três anos se passaram entre o reconhecimento clínico da síndrome de Rett, ocorrido em 1966, e a identificação do gene responsável. E mais de uma década para que pudéssemos vislumbrar uma terapia para uma doença grave e que até o momento não tem um tratamento que modifica de forma significativa o seu curso. Uma longa travessia, por veredas nunca dantes exploradas.

REFERÊNCIAS

1. Splendore A, Rocha KM, Takahashi VNVO, Zatz M, Passos-Bueno MR. Centro de Estudos do Genoma Humano: Seis Anos de Experiência no Diagnóstico Molecular da Síndrome de Rett. *Rev Neurocienc* 2012;20(2):194-199.
2. 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;23:185-8. <http://dx.doi.org/10.1038/13810>
3. Marchetto MC, Carromeu C, Acab A, Yu D, Yeo GW, Mu Y, et al. A model for neural development and treatment of Rett syndrome using human pluripotent stem cells. *Cell* 2010;143:527-39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2010.10.016>
4. Shahbazian M, Young J, Yuva-Paylor L, Spencer C, Antalffy B, Noebels J, et al. Mice with truncated *MeCP2* recapitulate many Rett syndrome features and display hyperacetylation of histone H3. *Neuron* 2002;35:243-54. [http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00768-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00768-7)
5. Gemelli T, Berton O, Nelson ED, Perrotti LI, Jaenisch R, Monteggia LM. Postnatal loss of methyl-CpG binding protein 2 in the forebrain is sufficient to mediate behavioral aspects of Rett syndrome in mice. *Biol Psychiatry* 2006;59:468-76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.07.025>