



Choroba Huntingtona jako przykład choroby neurodegeneracyjnej ze szczególnym uwzględnieniem aspektów genetycznych

Huntington's chorea as an exemplification of the role of genetic aspects in neurodegenerative diseases

KRZYSZTOF NADGRODKIEWICZ, IRENA KIFER

Z Oddziału Neurologii Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego w Radomiu

STRESZCZENIE. W pracy omówiono istotę mutacji dynamicznych, przypuszczalny mechanizm ich powstawania oraz ich znaczenie w patogenezie choroby Huntingtona. Przedstawiono dokładniej amplifikację określonych sekwencji trójnukleotydowych, zjawisko antycypacji i teorię naznaczenia genomowego.

SUMMARY. The nature of dynamic mutations, their presumable underlying mechanism, as well as their role in the pathogenesis of Huntington's disease are presented in the paper. Amplification of selected trinucleotide sequences, the anticipation phenomenon, and genome imprinting theory are discussed in more detail.

Słowa kluczowe: choroba Huntingtona / mutacje dynamiczne / huntingtyna

Key words: Huntington's disease / dynamic mutations / huntingtin

Choroba została opisana w 1872 r. przez George'a Huntingtona, który obserwował dotkniętą tym schorzeniem rodzinę w Nowej Anglii. Jest dziedzicznym schorzeniem przekazywanym przez dominujący gen zlokalizowany na 4 chromosomie. Wprawdzie choroba Huntingtona należy do rzadszych chorób neurologicznych, ale nie jest ona wyjątkowo rzadka. Wiek zachorowania waha się w szerokich granicach od 7 do 74 lat, lecz zwykle leży w przedziale od 25 do 54 roku życia. Początek choroby przed 20 rokiem życia ma miejsce u zaledwie 5-10% ogólnej liczby chorych [5]. Badania populacyjne oceniają częstość choroby na 4-7 na 100000 [7].

Pierwsze objawy choroby ujawniają się zwykle pomiędzy 30 a 50 rokiem życia. Hiperkinezy w postaci ruchów pląsawiczych rozwijają się stopniowo. Chód jest często znacznie upośledzony, niezgrabny. Przez

długi okres czasu ruchy pląsawicze mogą obejmować określone grupy mięśniowe, np. twarzy lub kończyn górnych. Z biegiem czasu te, niezależne od woli, ruchy ogarniają wszystkie mięśnie. W zaawansowanym okresie choroby dochodzi do silnego niepokoju ruchowego z zaburzeniami chodu. Napięcie mięśni jest obniżone, a odruchy głębokie często osłabione. Stałym objawem jest szorstka, zamazana mowa. W niektórych przypadkach ruchy mimowolne mogą być wolniejsze i przypominać atetozę czy dystonię torsyjną; w innych szybsze, zbliżone do mioklonii. U kilku procent chorych występują napady padaczkowe.

Po wielu latach trwania obserwujemy otępienie, objawiające się zapominaniem, spowolnieniem procesów myślowych, zaburzeniami zdolności operowania zdobytą wiedzą. W okresie głębokiego otępienia ru-

chy mimowolne ulegają zmniejszeniu. Obserwowano zaburzenia afektu, urojenia, halucynacje, stany majaczeniowe, depresję ze skłonnościami samobójczymi.

U chorych, którzy odziedziczyli gen po ojcu, choroba objawia się w młodszym wieku, często już przed 10 rokiem życia. Klinicznie stwierdza się sztywność mięśni, napady padaczkowe, szybko postępujące otępienie, objawy piramidowe i mózdkowe (typ Westphala). Rokowanie jest złe, zgon następuje po 10-15 latach trwania choroby. W przypadkach, gdy gen dziedziczony był od matki, choroba zaczyna się w wieku późniejszym, często po 50 roku życia. Zanik jądra ogoniastego, charakterystyczny kształt komór bocznych mózgu o wyglądzie motyla, a także zaniki mózgu, to typowe zmiany w obrazie CT głowy.

Choroba Huntingtona ma przebieg powoli postępujący i wskutek powikłań lub dołączających się chorób doprowadza do śmierci. Należy podkreślić, że sama choroba Huntingtona nie stanowi zwykle bezpośredniej przyczyny zgonu. Przeciętnie trwa 14 lat, ale rozrzut jej trwania wynosi od 12,7 do 16,1 roku.

Badania genealogiczne wykazały, że choroba rozpoczyna się w młodym wieku, kiedy gen jest przekazywany przez linię ojca, a w starszym wieku, kiedy został przeniesiony przez linię matki.

Choroba Huntingtona należy do klasycznych schorzeń układu nerwowego o charakterze dziedzicznym, określanym mianem „chorób neurogenetycznych” i definiowanych jako kliniczne jednostki chorobowe, powodowane defektem jednego lub większej ilości genów, prowadzących do zaburzenia różnicowania i funkcji neuroektodermy oraz jej pochodnych [6, 11].

Choroba Huntingtona przekazywana jest jako cecha autosomalna dominująca o pełnej penetracji. Przyczyną tej choroby jest mutacja położonego na chromosomie 4 genu *IT15*. Gen zlokalizowany jest na ramieniu krótkim chromosomu 4 (4p.16.3) [13].

Choroba ta należy do znanych od niedawna mutacji dynamicznych. Genetyka klasyczna definiowała mutacje jako dziedzicznie utrwalone zmiany w sekwencji DNA prowadzące do zaburzenia prawidłowego funkcjonowania genów. Mutacje w takim ujęciu miały stabilny charakter, zarówno pod względem niezmienności przy przekazywaniu z pokolenia na pokolenie, jak również wpływu na prawdopodobieństwo zajścia kolejnych zmian w obrębie zmutowanej sekwencji DNA. Do weryfikacji tej definicji zmusiło odkrycie w genomach eukariotycznych obecności sekwencji mutujących z dużą częstością, niejednokrotnie przy każdorazowym przekazywaniu ich potomstwu. Sekwencje takie określono mianem *niestabilnych sekwencji DNA* [4].

Niestabilne sekwencje DNA należą do grupy *sekwencji repetytywnych* (powtarzających się), stanowiących znaczną frakcję (u zwierząt do 50%) DNA genomowego. Jednym z rodzajów takich sekwencji są tzw. *sekwencje mikrosatelitarne* składające się z wielu następujących po sobie powtórzeń sekwencji 2-5 nukleotydowych. Sekwencje te charakteryzują się dużym polimorfizmem, co oznacza, że występują w genomie w wielu formach różniących się między sobą ilością powtórzeń sekwencji podstawowej. Przyczyną tak znacznego polimorfizmu jest zapewne łatwość, z jaką zachodzi w ich obrębie mutacja polegająca na *amplifikacji* (zwiększeniu) lub *kontrakcji* (zmniejszeniu) ilości jednostek podstawowych. Mechanizm powstawania tego typu mutacji nie jest obecnie wyjaśniony. Wydaje się jednak, że w przypadku sekwencji mikrosatelitarnych są one wynikiem tzw. ślizgania się polimerazy, a prawdopodobieństwo ich zajścia zależy od długości niestabilnej sekwencji. Mutacje te określa się mianem *mutacji dynamicznych* [3].

Prawdopodobieństwo wystąpienia mutacji zależy od długości sekwencji niestabilnych, składających się z powtórzonych trójnukleotydów. U osób zdrowych liczba

tych powtórzeń mieści się w pewnych określonych granicach, zaś u osób chorych znacznie je przekracza. Sekwencją niestabilną w chorobie Huntingtona jest ciąg powtórzeń CAG.

Jest to sekwencja kodująca ciąg glutamin w produkcie białkowym genu IT15, zwanym *huntingtyną*. U osób zdrowych występuje 11-34 powtórzeń CAG, a u osób chorych liczba ta wzrasta i waha się w granicach 42-100. Wzrost liczby powtórzeń wiąże się z obniżeniem wieku wystąpienia choroby i z nasileniem jej objawów. Wraz z tendencją do wydłużania się zmutowanego odcinka DNA obserwuje się nierzadko z pokolenia na pokolenie coraz wcześniejsze i silniejsze ujawnianie się objawów chorobowych. Zjawisko to nosi nazwę *antycypacji* [14].

Wart uwagi jest fakt, że dotychczas poznane mutacje dynamiczne – to wyłącznie sekwencje złożone z tripletów, mimo że wśród pozostałych sekwencji powtórzonych bardzo częste są powtórzenia dwu-, cztero-, a nawet pięcionukleotydowe. Wynika to być może z faktu, że o ile każda zmiana liczby powtórzeń trójnukleotydowych zachowuje w sekwencji kodującej poprzednią ramkę odczytu, to w przypadku powtórzeń sekwencji nukleotydów, nie będącej wielokrotnością trzech, mutacja taka grozi zmianą ramki odczytu i w konsekwencji całkowitym uszkodzeniem funkcji genu.

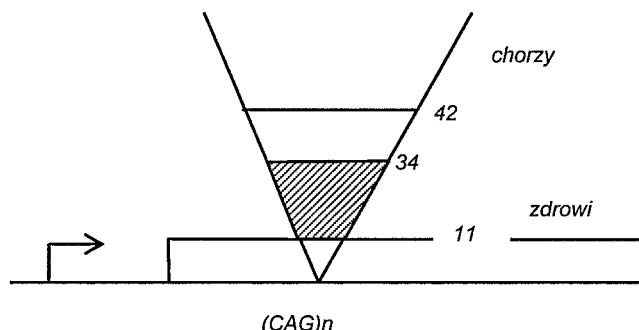
Istnieje wiele faktów przemawiających za tym, że we wszystkich chorobach związanych z mutacjami dynamicznymi mamy do czynienia z tzw. *zjawiskiem założyciela*. Jednym z takich faktów jest brak przypadków pojawiania się świeżych mutacji, czyli mutacji, które powstałyby od nowa u pacjenta, a nie byłyby mu przekazywane od jednego z rodziców. Również ściśle sprzężenie mutacji odpowiedzialnych za płasawicę Huntingtona z określonymi allelami sąsiednich markerów polimorficznych może

świadczyc o tym, że wiele wykrywanych obecnie mutacji pochodzi od wspólnego przodka [9].

Jedną z najbardziej fascynujących zagadek związanych z niestabilnymi sekwencjami DNA jest różnica w poziomie amplifikacji sekwencji powtórzonych w trakcie przekazywania dziecku genu przez matkę, bądź przez ojca. Wzmoczona niestabilność sekwencji, powtórzonych podczas przekazywania dziecku genu przez matkę, ma być może swoje źródło w różnicy między przebiegiem mejozy podczas oogenezy i spermatogenezy. Decydujące znaczenie może mieć tu chociażby różnica w poziomie puli dostępnych nukleotydów, bądź też któregoś z czynników replikacyjnych. Wiadomo, że częstość rekombinacji mejotycznej w niektórych regionach chromosomów jest również zależna od płci. Niedawno odkryto ponadto sekwencję powtórzoną, dla której poziom mutacji podczas spermatogenezy jest znacznie wyższy niż podczas oogenezy.

Do ciekawszych hipotez próbujących wyjaśnić zjawisko przekształcania premutacji w pełną mutację podczas oogenezy, należy teoria naznaczenia (*imprinting*), wysunięta w 1978 r. przez Lairda. Koncepcja ta opiera się na założeniu, że inaktywacja chromosomu X niosącego premutację, powoduje trwałe naznaczenie genu, które jest warunkiem koniecznym dla zajścia procesu przekształcania premutacji w pełną mutację. Teoria naznaczenia Lairda związana jest z szerszym zjawiskiem określanym mianem *naznaczenia genomowego*, w wyniku którego obserwuje się różnicę w ekspresji genów w zależności od tego, czy leżą one na chromosomie pochodzenia matczynego czy ojcowskiego. Być może z naznaczeniem genomowym mamy do czynienia również w przypadku choroby Huntingtona, gdzie młodociana forma choroby jest na ogół dziedziczona od ojca [12].

Rysunek 1. Mutacje dynamiczne, lokalizacja i poziom amplifikacji niestabilnych sekwencji w chorobie Huntingtona



Jak wspomniano, mechanizm patogenezy choroby Huntingtona nie został jeszcze poznany. Selektywna apoptoza neuronów nie jest wynikiem utraty aktywności jednego allelu IT15, lecz zmiany funkcji kodowanego przez niego białka, za czym przemawia fakt, że pacjenci z zespołem Wolf-Hirshorna, będący hemizygotami dla obszaru obejmującego gen IT15, na skutek częściowej delecji krótkiego ramienia chromosomu 4, nie wykazują objawów charakterystycznych dla choroby Huntingtona.

Możliwe więc, że dodatkowe właściwości białka będącego produktem zmutowanego genu są przyczyną zaburzeń w funkcjonowaniu komórki, co z kolei prowadzi do wystąpienia choroby. Białkowy produkt zawiera fragment poliglutaminianowy, jako że zmutowany region ulega w tym przypadku translacji. Zarówno mRNA, jak i białkowy produkt genu wykazują ekspresję w obrębie neuronów, a także innych komórek, a dystrybucja jest zgodna z obserwowanymi zmianami zwyrodnieniowymi [17]. Sugeruje to wyraźnie związek między ekspresją białka a uszkodzeniem neuronów, a także wspiera postulat o „nabyciu funkcji” wskutek mutacji [10, 18]. Nowsze badania rozwinęły tę hipotezę. Uważa się, że pojawienie się dodatkowej sekwencji poliglutaminianowej ma wpływ na interakcje z innymi białkami, po-

wodując w ten sposób uszkodzenie neuronów. Zidentyfikowano dotąd trzy różne białka wchodzące w potencjalne interakcje z huntingtiną, są to: HAP-1 (*huntingtin associated protein-1*), HIP-1 (*huntingtin interacting protein-1*) oraz enzym glikolityczny GAPDH. Badania sugerują, że następstwem mutacji w chorobie Huntingtona jest zaburzenie fizjologicznych interakcji huntingtyny z innymi białkami, a co za tym idzie prawdopodobnie uszkodzenie cytoskeletonu.

Powyższe doniesienia nie wyjaśniają mechanizmu procesu neurodegeneracyjnego w chorobie Huntingtona. Sugerują jednak wyraźnie obecność zaburzonych interakcji huntingtyna – inne białka jako potencjalnego patomechanizmu choroby [1]. Ostatnie badania wykorzystujące oznaczanie fragmentacji DNA sugerują pewną rolę apoptozy w śmierci komórki w chorobie Huntingtona. Wyniki sugerują, że zwiększone powtórzenia CAG w genie choroby Huntingtona mogą prowadzić do neurodegeneracji w chorobie Huntingtona poprzez mechanizm apoptozy.

Odkrycie niestabilnych sekwencji pozwoliło na opracowanie testów diagnostycznych, umożliwiających bezpośrednią analizę mutacji. Odkrycie niestabilnych sekwencji CAG w ilości 37-100 decyduje o rozpoznaniu choroby Huntingtona.

PIŚMIENNICTWO

1. Barinaga M. An intriguing new lead on Huntington's disease. *Science* 1996; 271: 1233-4.
2. Battersworth NJ. Trinucleotide (CAG) repeat length in positive correlated with degree of DNA fragmentation in Huntington's disease striatum. *Neurosci* 1998; 11: 49-53.
3. Caskey CT. Triplet repeat mutations in human disease. *Science* 1992; 256: 784-9.
4. Charlesworth B. The evolutionary dynamic of repetitive DNA in eukaryotes. *Nature* 1994; 371: 215-20.
5. Giron L, Koller W. A critical survey and update on the epidemiology of Huntington disease. W: Gorelick P, Alter M, Dekker M, red. *Handbook of Neuroepidemiology*. New York: Inc; 1994.
6. Goldberg YP, Telenius A, Hayden MR. The molecular genetics of Huntington's disease. *Curr Opin Neurol* 1994; 7: 325-32.
7. Harper PS. The epidemiology of Huntington disease. *Hum Genet* 1992; 89: 365-76.
8. Hoffman-Zacharska D. Dynamic mutations in degenerative diseases of the nervous system. *Post Psychiatr Neurol* 1997; 6: 49-60.
9. Hoogeveen AT, Willemsen R, Meyer N, de Rooij KE, Roos RA, van Ommen GJ, Galjard H. Characterization and localization of the Huntington disease gene product. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 2069-73.
10. La Spada AR, Paulson HL. Trinucleotide repeat expansion in neurological diseases. *Ann Neurol* 1994; 36: 814-22.
11. Leblhuber F. Frühe und präsymptomatische Erkennung der chorea Huntington. *Fortschr Neurol Psychiatr* 1993; 61: 1-21.
12. Li SH, Schilling G, Young WS. Huntington's disease gene (IT15) is widely expressed in human and rat tissues. *Neuron* 1993; 11: 985-93.
13. Muller U, Graeber MB. Molecular basis and diagnosis of neurogenetic disorders. *J Neurol Sci* 1994; 124: 119-40.
14. Ranen NG. Anticipation and instability of IT15 (CAG) in repeats in parent-offspring pairs with Huntington disease. *Ann J Hum Genet* 1995; 57: 593-602.
15. Snowden JS. Awareness of involuntary movements in Huntington disease. *Arch Neurol* 1998; 55 (6): 801-5.
16. Sobów T, Liberski P. Choroby wywołane niestabilnością powtarzalnych sekwencji trójek nukleotydowych. *Pol J Pathol* 1997; 49 (supl 1): 85-92.
17. Strong TV, Tagle DA. Widespread expression of the human and rat Huntington's disease gene in brain and nonneural tissues. *Nat Genet* 1993; 5: 259-65.
18. Tsuji S. Molecular genetics of triplet repeats: unstable expansion of triplet repeats as a new mechanism for neurodegenerative diseases. *Intern Med* 1997; 36: 3-8.

Adres: Dr Krzysztof Nadgródkiewicz, Oddział Neurologii Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego, ul. Aleksandrowicza 5, 26-617 Radom