

# Das Rett-Syndrom

Franco A. Laccone

Institut für Humangenetik, Göttingen

## Zusammenfassung

Das Rett-Syndrom ist nach dem Down-Syndrom die häufigste Form mentaler Retardierung des weiblichen Geschlechtes. Die Erkrankung ist üblicherweise durch eine anscheinend normal verlaufende postnatale Entwicklung gekennzeichnet, gefolgt von einer Regressionsphase. Die Hauptsymptome sind geistige Retardierung, Wachstumsretardierung, Verlust von erworbenen Fähigkeiten, zeitweilig autismusähnliche Merkmale und Entwicklung stereotypischer Handbewegungen. Im weiteren Verlauf entwickeln sich eine Reihe weiterer Symptome, die zum Teil altersspezifisch sind. Mutationen im MECP2-Gen verursachen das Rett-Syndrom. Sie sind meistens de-novo und entstehen überwiegend auf dem väterlichen X-Chromosom. Duplikationen des MECP2-Gens und benachbarter Regionen wurden in Rett-ähnlichen Krankheitsverläufen bei Knaben mit komplizierter mentaler Retardierung identifiziert. Der pathogenetische Mechanismus des Rett-Syndroms ist nach wie vor unklar. Eine postnatale Differenzierungs-, Reifungs- und Erhaltungsstörung der aminergen Neuronen mit assoziierten neuronalen Dysfunktionen, im Sinne einer Synaptopathie wird zu Zeit diskutiert. Die molekulargenetische Untersuchung ermöglicht die Diagnosesicherung bei etwa 95% der klassischen Rett-Fälle. Das Wiederholungsrisiko bei de novo-Mutationen liegt deutlich unter 0,3%.

## Schlüsselwörter

MECP2, mentale Retardierung, X-Inaktivierung, Chromatin-Reorganisation

## Abstract

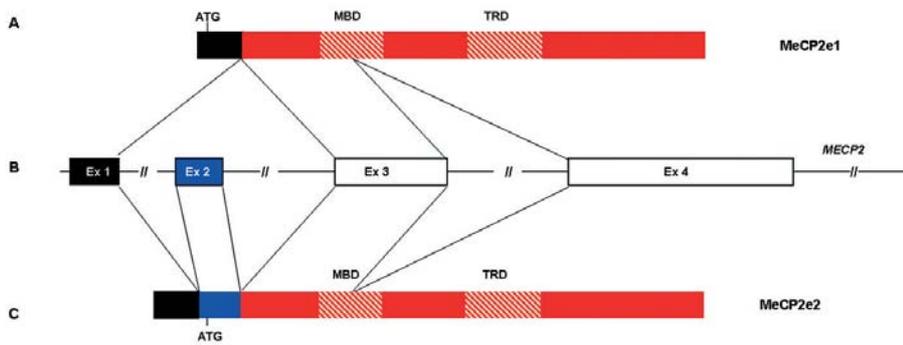
*Rett syndrome is the most frequent form of mental retardation affecting girls after the Down syndrome. The disease is characterized by an apparently normal early postnatal development, followed by a period regression. The main features of Rett syndrome are mental retardation, growth retardation, loss of acquired skills, transient autism-like behaviour and development of stereotyped hand movements. The course of the disease is characterized by specific age-dependent symptoms. Mutations of the MECP2 gene cause Rett syndrome. Mutations are mostly de novo and frequently originating on the paternal X-chromosome. Duplication of MECP2 and adjacent genes were recently identified in males with complicated mental retardation and with a Rett-like course of the disease. The pathogenetic mechanisms of the Rett syndrome are still unclear. A postnatal dysfunction of the integration, maturation and maintenance of the synapses is the leading pathogenetic hypothesis. Diagnostic testing for mutations or large genomic rearrangements involving methyl-CpG binding protein 2 gene (MECP2) is highly sensitive and identifies mutations in up to 95% of female individuals with classic Rett syndrome. The recurrence risk is less than 0.3%.*

## Keywords

MECP2, mental retardation, X-inactivation, chromatin remodelling,

## Historischer Rückblick

Andreas Rett, ein Wiener Neuropädiater, äußerte den Verdacht auf das Vorliegen eines neuartigen Syndroms bei der Beobachtung von zwei nebeneinander auf dem Schoß der Mutter sitzenden Mädchen, die dasselbe Verhaltensmuster zeigten. Die wissenschaftliche Aufarbeitung dieser „zufälligen“ und weiterer Beobachtungen an 6 Mädchen mit ähnlichen Symptomen hat Rett in einer Publikation in deutscher Sprache 1966 mit dem Titel „Über ein eigenartiges hirnatrophisches Syndrom bei Hyperammonämie im Kindesalter“ vorgestellt (Rett, 1966). Die Hyperammonämie stellte sich im Nachhinein als Laborfehler heraus und nicht dem Syndrom zugehörig. Die Arbeit von Rett fand zunächst kein großes Echo, und das beschriebene Syndrom wurde nicht als eigenständiges Krankheitsbild anerkannt. Ischikawa et al. beschrieben 1978 drei ähnliche Fälle und sprachen von einem unbekanntem Syndrom (Ischikawa, 1978). Die damalige wie auch heutige hierarchische Organisation der wissenschaftlichen Publizistik ermöglicht die schnelle Bekanntmachung lediglich von Arbeiten in englischer Sprache. Die 1983 von Hagberg vorgelegte Arbeit in *Annals of Neurology* diente der besseren und schnelleren Verbreitung der Kenntnisse über das Krankheitsbild (Hagberg, 1983). Die Erkrankung wurde von Hagberg in Würdigung der Erstbeschreibung des Krankheitsbildes 1966 von Andreas Rett als Rett-Syndrom bezeichnet. Eine, retrospektiv betrachtet, wichtige Entscheidung zur Aufklärung des Rett-Syndroms war



**Abb 1** Schematische Darstellung beider Isoformen des MeCP2-Proteins (A und C). In B ist die genomische Struktur des Gens mit dem alternativen Spleißen dargestellt.

MBD = Methyl-Binding-Domain.  
TRD = Transcription-Repressor-Domain

die 1985 publizierte Festlegung von prägnanten diagnostischen Kriterien (Hagberg, 1985). Durch die Einhaltung dieser Kriterien wurde die klinische Erfassung von klassischen Rett-Patientinnen vereinfacht und einheitlich gestaltet. Amir et al. fanden 1999, dass Mutationen des *MECP2*-Gens das Rett-Syndrom verursachen.

#### Krankheitsbild

Beim Rett-Syndrom handelt es sich um ein X-chromosomal dominant vererbtes Krankheitsbild, das fast ausschließlich bei Mädchen vorkommt. Nach der Publikation von Hagberg et al. (1983) nahm die Anzahl an publizierten Fällen rasant zu. Das Rett-Syndrom ist nach dem Down-Syndrom die häufigste Form mentaler Retardierung bei Mädchen. Die Häufigkeit ist regional unterschiedlich und liegt zwischen 1:10.000 bis 1:22.000 (Hagberg, 1997). In Deutschland wird eine Häufigkeit von 1:10.000 angenommen, wobei allerdings keine epidemiologischen Daten diesbezüglich zur Verfügung stehen.

Das Rett-Syndrom hat einen dynamischen Krankheitsverlauf, der in vier ineinander fließende Stadien unterteilt wird (Clarke, 1996; Dunn, 2001). Das erste Entwicklungsstadium verläuft bis zum Alter von 6–18 Monaten (selten später) anscheinend altersgemäß. Es folgen eine Entwicklungsverlangsamung und später ein Stillstand aller Entwicklungsbereiche. Die breite individuelle Entwicklungsvariabilität in diesem Alter erschwert die Erfassung der ersten Anzeichen eines Rett-Syndroms. Diese erste Phase ist oft nur

retrospektiv aufgrund elterlicher Angaben festzumachen (Abb. 2).

Die darauf folgende Phase ist durch den Verlust von bis dahin erworbenen Fähigkeiten gekennzeichnet. In unterschiedlichem Ausmaß sind die kommunikative Sprache und die feinmotorischen Fähigkeiten betroffen. Kennzeichnend dafür ist der Verlust des sinnvollen Handgebrauchs. Hinzu kommen kann die Entwicklung stereotyper Hand-Mund-Bewegungen, die einem individuellen Muster zu folgen scheinen. Während dieses Stadiums kann sich eine Gang- und Rumpfpapraxie entwickeln, die durch eine Ataxie überlagert sein kann. Der Eintritt dieser Phase kann sehr abrupt und der Verlauf sehr dramatisch sein, und zum Teil wie eine subakute Enzephalopathie wirken.

Es folgt ein langandauerndes Stadium, die sogenannte pseudostationäre Phase. Während dieser Phase treten zusätzliche Symptome und Folgeerscheinungen wie Spastik, Skoliose, Epilepsie (bei 60 bis 80 % der Patientinnen) auf. Bei einigen Patientinnen kann ein rudimentärer Sprachgebrauch wieder erworben werden.

Das letzte Stadium dauert lebenslang und beginnt üblicherweise während der Pubertät, selten vor dem 5. Lebensalter, und ist durch das Auftreten weiterer körperlicher Auffälligkeiten wie Spastik, Bradykinesie, distal betonte Dystonien und Rollstuhlabhängigkeit gekennzeichnet. Der Wachstumsschub während der Pubertät bleibt üblicherweise aus, so dass im

Erwachsenenalter ein Kleinwuchs vorliegt. Die Überlebenskurven zeigen bei Patientinnen im Alter von 35 Jahren einen deutlichen Unterschied gegenüber einem vergleichbaren Kollektiv gleichaltriger Frauen (70 % versus 95 %). Bei Patientinnen mit Rett-Syndrom tritt plötzlicher und unerwarteter Tod häufig auf (22 % der Todesfälle) (Clarke, 1996). Die Ursachen dafür liegen möglicherweise in einer Dysfunktion des autonomen Nervensystems bzw. in einer Instabilität der kardialen Erregungsleitungen.

Bei der klinischen Diagnosestellung des Rett-Syndroms gelten in modifizierter Form die 1985 definierten Kriterien (Tabelle 1). Man unterscheidet Haupt- und unterstützende Kriterien. Zu den diagnostischen Hauptkriterien gehören eine normale Schwangerschaft und Geburt, normale Entwicklung während der ersten sechs bis 18 Lebensmonate sowie ein normales Kopfwachstum. Postnatale Abnahme des Kopfwachstums, Verlust sozialer Kontaktfähigkeit, Sprachverlust bzw. Störungen der Sprachenentwicklung, Verlust feinmotorischer Fähigkeiten und die Entwicklung von Handstereotypen vervollständigen die hauptdiagnostischen Kriterien. Eine komplette Darstellung der modifizierten diagnostischen Kriterien ist in der Arbeit von Hagberg et al. zu finden (Hagberg, 2002).

Tab 1 Diagnostische Kriterien für das Rett-Syndrom

**Obligate Kriterien**

- Unauffällige prä-, peri- und postnatale Zeit
- Anscheinend normale motorische und geistige Entwicklung bis zum 6-10. Lebensmonat
- Kopfumfang im Normbereich bei Geburt
- Verlangsamung des Kopfwachstums zwischen dem 5. Monat und 4. Lebensjahr
- Verlust eines sinnvollen und gezielten Gebrauchs der Hände sowie emotionaler Rückzug zwischen dem 6. und 30. Lebensmonat
- Verlust der kommunikativen Sprache bzw. Störungen der Sprachentwicklung
- Verlust feinmotorischer Fähigkeiten
- Entwicklung stereotypischer meist symmetrischer Handbewegungen unterschiedlicher Muster
- Gangentwicklungsstörung bzw. keine Laufentwicklung
- Klinische Diagnose im Alter von 2 bis 5 Jahre

**Unterstützende Kriterien**

- Anomalien der respiratorischen Rhythmik mit periodischen Apnoephasen im Wachzustand
- EEG-Anomalien
- Epilepsie
- Spastik mit Dystonie und muskulärer Atrophie
- Störungen der vasomotorischen Regulation insbesondere der unteren Extremitäten
- Entwicklung einer fortschreitenden invalidierenden Skoliosis
- Wachstumsverzögerung
- Kleine, blau gefärbte kalte Füße
- Wach-Schlaf-Rhythmus gestört
- Bruxismus

Neben dem klassischen Rett-Syndrom wurden 1994 von Hagberg und Skjerdal 6 Varianten beschrieben (Hagberg, 1994):

1. Das klassische Rett-Syndrom mit Frühmanifestation (vor dem 6. Lebensmonat).
2. Das kongenitale Rett-Syndrom mit primärer Retardierung und fehlender Regressionsphase.
3. Das Vollbild eines Rett-Syndroms mit spät einsetzender und langsam verlaufender Regressionsphase.
4. Das mildere Rett-Syndrom mit unvollständigem klinischen Bild, langsamem Verlauf, fehlender Apraxie.
5. Rett-Syndrom mit erhaltener expressiver Sprache.
6. Die sogenannten „forme fruste“.

Differentialdiagnostisch zum Rett-Syndrom kommen neurometabolische Erkrankungen in Frage, die ebenfalls durch eine Regression gekennzeichnet sind, die jedoch aufgrund ihrer auffälligen Laborparameter unschwer vom Rett-Syndrom zu differenzieren sind. Schwer vom Rett-Syndrom abzugrenzen sind jedoch der infantile Autismus, das Angelman-Syndrom und das Fragile X-Syndrom, insbesondere gegenüber den unvollständigen Formen des Rett-Syndroms.

**Das MECP2-Gen und seine putative Funktion**

Das MeCP2-Protein wurde bereits 1992 beschrieben. In Mauszellen bindet das MeCP2-Protein an heterochromatische Chromosomenbereiche, während das Protein in menschlichen Zellen überwiegend an heterochroma-

tische, aber auch an euchromatische Regionen jedes Chromosoms bindet (Lewis, 1992). Das Protein enthält eine Methyl-Cytosin-bindende Domäne (MBD). Diese vermittelt dem Protein die Fähigkeit, an methyliertes Cytosin zu binden. Rezente publizierte Daten zeigen, dass das MeCP2-Protein spezifisch an methylierte Cytosine bindet, die mindestens von 4-6 A/T Nukleotiden flankiert sind (Klose, 2005). Diese Ergebnisse beschränken die Wirkungsstelle des MeCP2-Proteins.

Eine zweite Domäne des MeCP2s ist die Transkriptions-Repressions-Domäne (TRD), die mit Ko-Repressor-Komplexen wie Sin3a, c-Ski und N-CoR interagiert (Kokura, 2001). Die Histon-Deacetylase dieser Komplexe bewirkt eine konformationelle Chromatin-Veränderung, die eine transkriptionshemmende Struktur annimmt. Eine dritte mögliche Domäne liegt am Carboxyterminus des Proteins und zeigt Homologien zu einigen Transkriptionsfaktoren aus der Forkhead-Familie (Vacca, 2001). Diese Domäne scheint eine direkte Interaktion mit dem Transkriptionsfaktor TFIIB einzugehen (Kaludov, 2000). Weitere Interaktionspartner sind beschrieben worden, wie der „Brahma-SWI/SNF chromatin-remodeling complex“ (Harikrishnan, 2005). Das MeCP2 hat zwei alternative Isoformen, genannt MeCP2e1 und MeCP2e2 (Mnatzakanian, 2004) (alternative Bezeichnungen für die MeCP2e1- und e2-Isoformen sind: MeCP2B bzw. MeCP2A) (Abb. 1). Beide Isoformen unterscheiden sich am N-Terminus,

wobei die MeCP2e1-Isoform einen repetitiven Polyalanin- und Polyglycin-Bereich aufweist. Die funktionellen Unterschiede sind jedoch nicht klar. Jüngere publizierte Daten schreiben dem MeCP2-Protein eine Rolle bei der posttranskriptionellen Regulation des prä-mRNA-Spleißens zu (Young, 2005). Die putative „universelle“ Repressorfunktion des MeCP2-Proteins wird in zunehmenden Maß in Frage gestellt. Unter der Hypothese einer Dysregulation der inhibitorischen Genregulation bei Rett-Patientinnen bzw. Rett-Mausmodellen wäre eine Über- oder Unterexpression von Hunderten von Genen zu erwarten. Dies konnte in diesem Umfang von zwei unabhängigen Arbeitsgruppen nicht bestätigt werden. Beide Studien wurden mit Hilfe der Mikroarray-Technologie durchgeführt. Es wurden differenziell exprimierte Gene von Knockout-Mäusen im Vergleich zu Wild-Typ-Mäusen sowie von monoallelischen Zelllinien von Patientinnen mit Rett-Syndrom versus Wildtyp-Zelllinien untersucht. Es wurden jedoch nur geringe Unterschiede festgestellt, und zum Teil sind die Ergebnisse beider Arbeitsgruppen nicht miteinander vergleichbar (Traynor, 2002; Tudor, 2002).

Das MeCP2-Protein spielt nach rezenten Daten zweifelsohne eine entscheidende Rolle bei der postnatalen neuronalen Entwicklung sowie bei der Erhaltung der neuronalen Funktion nach Abschluss der Gehirnentwicklung. Darüber hinaus häufen sich die Daten über die Beteiligung des MeCP2-Proteins an der Synapsenbildung (Kishi, 2005).



**Abb 2A und 2B zeigen die gleiche Patientin in Alter von 14 Monaten und 14 Jahren.**

Das Kind in 2A zeigte keine akuten Anzeichen der Erkrankung. Nach elterlichen Angaben sei das Kind sehr ruhig und etwas Hypoton gewesen. Die Regressionsphase begann im Alter von 18-20 Monaten und endete im Alter von 3-4 Jahren.

In 2B zeigt die Patientin ihren spezifischen Handstereotypien. Bei ihr war bereits ein chirurgischer Eingriff zur Stabilisierung einer fortschreitenden Skoliose notwendig.

Lebensfähige Knock-out-Mausmodelle sowie ein Knock-in-Mausmodell widerlegten die vermutete essenzielle Funktion des MeCP2-Proteins während der Embryonalentwicklung (Chen, 2001; Guy, 2001; Shahbazian, 2002). In zwei gleichzeitig publizierten Arbeiten wird über die BDNF-Genregulation („Brain Derived Neuronal Factor“) durch das MeCP2-Protein berichtet. Das MeCP2-Protein bindet an den Promoter III des BDNF-Gens in nicht stimulierten Neuronen. Eine Aktivierung der Neuronen mittels KCl löst die Bindung zwischen dem Promoter und dem MeCP2-Protein durch Demethylierung des Promoters und/oder durch Phosphorylierung des MeCP2-Proteins. Gleichzeitig ist eine Erhöhung der BDNF-Transkription festzustellen. Die Autoren stellten überzeugende Daten über diese dynamische Regulation des BDNF-Gens vor. Da das BDNF-Protein eine zentrale Rolle während der Synapsenbildung und der neuronalen Entwicklung spielt, spekulieren die Autoren, dass ihre Fehlregulation durch z.B. Mutationen in MeCP2 einer der pathogenetischen Mechanismen sein könnte, die dem Rett-Syndrom zugrunde liegen (Chen, 2003; Martinowich, 2003). Diese Hypothese, dass das BDNF Protein eine Rolle beim Verlauf der Erkrankung spielt, wird durch jüngere Daten untermauert. Eine Unterexpression des BDNF-Proteins in *MeCP2*-Knock out-Tieren führt zur einer Verschlechterung der Lebenserwartung der Tiere. Das Gegenteil konnte beobachtet werden bei einer Überexpression des BDNF-Proteins (Chang, 2006). Ein weiteres „bona fide“-Tar-

get-Gen vom MeCPC2 ist das *DIX5*-Gen („DNA-binding homeobox protein“), das in GABA-ergischen Neuronen exprimiert ist und die Synthese von GABA anregt (Horike, 2005).

Der pathogenetische Mechanismus, wodurch Mutationen im *MECP2*-Gen das Rett-Syndrom bedingen, bleibt jedoch nach wie vor unklar. Nach allen uns zur Verfügung stehenden Kenntnissen ist es vertretbar, das Rett-Syndrom als eine postnatale Differenzierungs-, Reifungs- und Erhaltungsstörung der Neuronen mit assoziierten neuronalen Dysfunktionen im Sinne einer Synaptopathie zu definieren.

#### Mutationsspektrum

Das *MECP2*-Gen hat vier Exons und drei Introns, wobei mehr als 98% der kodierenden Sequenz in den Exons 3 und 4 enthalten ist. Mutationen des *MECP2*-Gens wurden weltweit bei 70-80 % der klassischen Rett-Patientinnen festgestellt. Das Mutationsspektrum umfasst eine Reihe an Mutationstypen (Missense, non-sense Mutationen, Splice-Site Mutationen, Deletionen, Duplikationen). Die Gruppierung der Mutationen nach dem Mutationstyp (Missense-Mutationen versus Nonsense-Mutationen) zeigt eine präferenzielle Lokalisation der Missense-Mutationen in der MBD-Domäne (methyl-binding-domain) des *MECP2*-Gens. Die Nonsense-Mutationen hingegen sind in der TRD-Domäne (transcription-repression-domain) lokalisiert (Miltenberger-Miltenyi, 2003). Eine dritte Gruppe von Mutationen liegt am 3'-Ende des

*MECP2*-Gens, das durch repetitive Elemente gekennzeichnet ist. Aufgrund dieses hohen Anteils an Deletionen haben wir diese Region als „Deletion Prone Region“ (DPR) bezeichnet, um ihre Neigung zur genomischen Rekombination zu unterstreichen. Große Deletionen stellen nämlich ein häufiges mutationales Ereignis dar (etwa 10% aller *MECP2*-Mutationen) (Laccone, 2001). Genotyp/Phänotyp-Analysen zeigen widersprüchliche Ergebnisse. De facto ist eine solche Korrelation weder bezüglich des Mutationstyps noch in Bezug auf die intramolekulare Position der Mutation aussagekräftig. Die X-Inaktivierung ist sicherlich eine der den Phänotyp modulierenden Faktoren, die eine solche Korrelation erschwert und die diskrepanten Ergebnisse unterschiedlicher Arbeitsgruppen erklären kann.

#### Mutation im *MECP2* bei männlichen Patienten

Das Rett-Syndrom tritt fast ausschließlich bei Mädchen auf. Sporadisch wurden Berichte über männliche „Varianten“ publiziert. In der Originalarbeit von Amir et al. wurde bei einem männlichen Patienten mit einer schweren kongenitalen Enzephalopathie eine Mutation im *MECP2*-Gen beschrieben. Diese und weitere Arbeiten bewiesen definitiv, dass Mutationen im *MECP2*-Gen auch bei männlichen Patienten vorkommen können (Moog, 2003). Knaben mit einer konstitutiven, auch bei weiblichen Patienten, nachgewiesenen Mutation, zeigen meistens eine kongenitale Enzephalopathie. Einige Mutationen

können einen gering gravierenden Phänotyp bei Knaben jedoch verursachen (Masuyama, 2005). 47,XXY-Knaben unterscheiden sich im Bezug auf die Anzahl der X Chromosomen nicht von 46, XX Mädchen und demzufolge zeigen sie meistens ein klassisches Rett-Syndrom. Knaben mit einer kompletten Duplikation des *MECP2*-Gens und benachbarter Gene, „*MECP2*-Duplikation-plus“, zeigen ein komplexes und uneinheitliches Krankheitsbild, das durch die „Codeletion“ anderer Gene moduliert wird (Meins, 2005; Van Esch, 2005). Es ist z.Z. noch unklar, in wie weit eine Überexpression des *MECP2*-Gens die Hauptursache der vorhandenen Symptomatik ist oder, ob die Überexpression andere Gene oder, sogar cis-Effekte durch die lokal modifizierte Chromatinstruktur den entsprechenden Phänotyp bedingen.

Sehr umstritten war der ursächliche Zusammenhang zwischen Mutationen des *MECP2*-Gens und unspezifischer mentaler Retardierung. Couvert et al. berichteten über eine höhere Mutationsrate im *MECP2*-Gen bei unspezifisch mental retardierten männlichen Patienten (Couvert, 2001). Diese Ergebnisse konnten von einer Reihe von Arbeitsgruppen nicht bestätigt werden. Mutationen des *MECP2*-Gens sind demzufolge ein sehr seltenes Ereignis bei Jungen mit unspezifischer mentaler Retardierung. Schlussfolgend ergibt sich die Notwendigkeit der Genotypisierung von Familienmitgliedern im Falle der Feststellung eines noch nicht beschriebenen Nukleotidaustausches bei Knaben. Dieses Vorgehen ist unabdingbar um den pathologischen Wert eines Nukleotidaustausches eindeutig festlegen zu können, insbesondere im Fall einer X-gebundenen rezessiven Mutation und um eine Überinterpretation von Missense-Mutationen im *MECP2*-Gen im männlichen Geschlecht zu vermeiden (Laccone, 2002).

#### Zur Entstehung der Mutationen beim Rett-Syndrom

Das Rett-Syndrom tritt in der Regel sporadisch und fast ausschließlich bei Mädchen auf, wie bereits erwähnt. Das nur selten zu beobachtende Vorkommen bei Jungen könnte durch

eine mögliche intrauterine Letalität männlicher Embryonen verursacht werden. Das Phänomen der männlichen Letalität bei X-gebundenen Erkrankungen ist in der Tat bei anderen Erkrankungen wie der Incontinentia pigmenti oder der Chondrodysplasia punctata bekannt. In diesen Familien wird über eine erhöhte Rate von Aborten männlicher Feten berichtet (Munne, 1996). Beim Rett-Syndrom fehlt jedoch jeglicher Hinweis für eine erhöhte Abortrate in den betroffenen Familien. Unsere Untersuchungen über die elterliche Herkunft der Mutationen zeigen einen überwiegend väterlichen Ursprung der Mutationen. Zu gleichen Ergebnis kam eine französische Arbeitsgruppe (Girard, 2001; Trappe, 2001). Der paternale Ursprung der Mutation ermöglichte uns eine alternative Erklärung für die Seltenheit von betroffenen männlichen Individuen zu geben. Die männlichen Individuen erben normalerweise das Y-Chromosom des Vaters und können nicht das mutierte X-Chromosom erhalten, demzufolge nicht erkranken. Es handelt sich hierbei um eine neue, gegensätzliche Perspektive bezüglich der Ursache für die Seltenheit von betroffenen Jungen: das männliche Geschlecht schützt vor dem Risiko, am Rett-Syndrom zu erkranken. Es gibt einen kleinen Anteil an Mutationen, die auf dem maternal übertragenen X-Chromosom entstehen. Die biologischen Mechanismen, die der bevorzugten Mutationsentstehung in der männlichen Keimbahn zugrunde liegen, sind nicht bekannt. Das Alter der Väter von Kindern mit Rett-Syndrom ist nicht erhöht, wie das bei anderen Erkrankungen mit ausgeprägter bzw. ausschließlicher paternaler Entstehung von Neumutationen bekannt ist (Trappe, 2001). Generell ist die männliche Keimbahn „rekombinationsfreudig“, was durch zahlreiche Studien belegt wurde (Makova, 2002). Die Anzahl von mitotischen und meiotischen Zellteilungen, die regionalen Unterschiede der Chromatinstruktur bzw. die unterschiedlichen Methylierungszustände des Genoms in männlichen Keimzellen spielen möglicherweise eine Rolle bei der Entstehung von Neumutationen.

Die Transition C>T ist der häufigste Mutationstyp beim Rett-Syndrom. Betroffen sind methylierte Cytosine. Die Hypermethylierung der X-Chromosomen in den männlichen Keimzellen spielt möglicherweise eine wesentliche Rolle bei der Entstehung der Transition von Cytosin zu Thymin. Die Deaminierung von methyliertem Cytosin führt zu intermediärem Uracil, das dann bei der DNA-Replikation als Thymin erkannt wird. In diesem Kontext kann man die Mutationsanfälligkeit des *MECP2*-Gens beim Rett-Syndrom als zusätzlichen Hinweis der erhöhten männlichen Rekombinationsfähigkeit sehen. Der paternale Ursprung der meisten Mutationen bekräftigt den sporadischen Charakter dieses Syndroms.

#### Andere Gene

Mutationen in zwei weiteren Genen sind bei einigen Rett-Varianten beschrieben worden, nämlich in den *CDKL5/STK9*-Genen (Tao, 2004; Weaving, 2004) und Netrin G1-Genen (Borg, 2005). Mutationen im *CDKL5/STK9* bedingen eine Rett-ähnliche Symptomatik mit früh auftretenden Epilepsien (vor dem 4. Lebensmonat). Dieses Merkmal dient als Orientierung, um eine Indikation zur Mutationsanalyse des exonreichen *CDKL5/STK9*-Gens zu stellen. Mutationen im Netrin G1-Gen sind hingegen sehr selten (Archer, 2006). Während eine Mutationsanalyse des *CDKL5/STK9*-Gens bei entsprechend vorliegender Klinik zu überlegen ist, ist eine Untersuchung des NetrinG1-Gens evtl. auf einen späteren Zeitpunkt nach Klärung der Beteiligung dieses Gens an der Verursachung des Rett-Syndroms zurückzustellen.

#### Diagnostische Kriterien

Die Diagnose Rett-Syndrom ist zunächst eine klinische Diagnose und beim Vollbild ist sie eindeutig. Die Molekularanalyse dient zur Diagnosebestätigung. Bedingt durch den z. T. schleichenden Verlauf, kann sie jedoch sehr hilfreich bei der frühen Diagnosefindung sein und somit Kindern und Eltern die in den meistens Biografien beschriebenen zahlreichen Krankenhausbesuche ersparen. In Tabelle 1 sind die obligaten und unterstützenden Kriterien aufgeführt. Die

se Kriterien sollen jedoch nicht als starre Regeln verstanden werden, vielmehr dienen sie als Leitfaden bei der Diagnosestellung.

### Molekulargenetische Untersuchung

#### Indikationen

- Klassisches Rett-Syndrom
- Regressionssymptomatik unklarer Genese (metabolische und andere Ursache ausgeschlossen) sowohl bei Mädchen (auch ab der Pubertät) als auch bei Jungen.
- Schwere kongenitale Enzephalopathie unklarer Genese bei Jungen.
- Bei Fällen mit früh auftretenden Epilepsien und unauffälligen *MECP2*-Analysen ist die Untersuchung des *CDKL5/STK9*-Gens in Betracht zu ziehen.

Es besteht **keine Indikation** zur *MECP2*-Analyse bei unspezifischer mentaler Retardierung bei Knaben.

#### Art der Untersuchungen

- Mutationsscreening aller 4 Exons mit adäquater Methodik.
- Deletion- und Duplikationsanalyse mittels quantitativer Systeme.
- Evtl. Southern Blot-Analyse zur Bestätigung großer Deletionen.

#### Genetische Beratung

In der Literatur kursieren Wiederholungszahlen von 0,3% bis 1% für das Rett-Syndrom (Wahlstrom, 1987). Diese Zahlen sind aufgrund der „ante-*MECP2*-Screening“-Ära beschriebenen familiären Fälle zustande gekommen. Nur ein Bruchteil der o.g. familiären Fälle ist jedoch durch Mutationen im *MECP2* verursacht. Ob es sich bei den übrigen Fällen um Phänokopien handelt oder um echte Rett-Syndrom-Fälle, bedingt durch Mutationen in anderen bisher nicht untersuchten Bereichen des Gens, ist nicht endgültig klar. Bei allen bisher beschriebenen familiären Fällen war die Mutter selbst Trägerin einer *MECP2*-Mutation, die entweder als Gonadenmosaik oder auch als konstitutive Mutation vorgelegen hat, die sich jedoch aufgrund einer „eskewed“-X-Inaktivierung stumm verhielt.

Bisher ist ein einziger pränatal identifizierter Fall in der Literatur beschrieben worden. Die Autoren haben bei neun pränatalen Untersuchungen einen durch ein mütterliches Gonadenmosaik bedingten Wiederholungsfall identifiziert (Mari, 2005). Im Institut der Universität Göttingen wurden 22 pränatale Untersuchungen durchgeführt, die allesamt unauffällig waren. Da das Rett-Syndrom überwiegend sporadisch auftritt und fast ausschließlich paternalen Ursprungs ist, ist demzufolge kein erhöhtes Wiederholungsrisiko zu erwarten. Unter Berücksichtigung der oben erwähnten Fakten gehen wir von einem deutlich unter 0,3 % liegenden Wiederholungsrisiko aus. Im Rahmen der genetischen Beratung sollen die o.g. Daten mit dem Elternpaar erörtert und wenn gewünscht, eine pränatale Diagnostik angeboten werden.

Anders vorzugehen ist bei „*MECP2*-Duplikationen-plus“ in Jungen. Bei fast allen beschriebenen Duplikationen war die Mutter Trägerin der Duplikation. Die Untersuchung der X-Inaktivierung zeigte bei allen informativen Fällen eine starke „eskewed“ X-Inaktivierung. Dies wird als Indiz dafür angesehen, dass die mutierten X-Chromosomen inaktiviert waren. Hier ist ein 50%-iges Wiederholungsrisiko für Knaben anzugeben. Formal genetisch haben auch Mädchen eine 50%-ige Wahrscheinlichkeit, die Duplikation zu erben. Es ist zu erwarten, dass eine Duplikation des *MECP2*- und benachbarter Gene, falls das mutierte X-Chromosom aktiv ist, einen Phänotyp verursachen wird. Verlässliche Aussagen über den Schweregrad bzw. über die Prognose des Krankheitsbildes sind jedoch nicht möglich. Ob eine Messung des X-Inaktivierungsgrades des Feten im Falle einer pränatalen Diagnostik zur Klärung der o.g. Problematik beitragen kann, mag der Verfasser bezweifeln.

#### Literatur

- Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY (1999) Rett syndrome is caused by mutations in X-linked *MECP2*, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat. Genet.* 23 (2):185-8.
- Archer HL, Evans JC, Millar DS, Thompson PW, Kerr AM, Leonard H, Christodoulou J, Ravine D, Lazarou L, Grove L, Verity C, Whatley SD, Pilz DT, Sampson JR, Clarke AJ (2006) NTNG1 mutations are a rare cause of Rett syndrome. *Am J Med Genet A* 140:691-4
- Borg I, Freude K, Kubart S, Hoffmann K, Menzel C, Laccione F, Firth H, Ferguson-Smith MA, Tommerup N, Ropers HH, Sargan D, Kalscheuer VM (2005) Disruption of Netrin G1 by a balanced chromosome translocation in a girl with Rett syndrome. *Eur J Hum Genet* 13:921-7
- Chang Q, Khare G, Dani V, Nelson S, Jaenisch R (2006) The disease progression of *Mecp2* mutant mice is affected by the level of BDNF expression. *Neuron* 49:341-8
- Chen RZ, Akbarian S, Tudor M, Jaenisch R (2001) Deficiency of methyl-CpG binding protein-2 in CNS neurons results in a Rett-like phenotype in mice. *Nat Genet* 27:327-31
- Chen WG, Chang Q, Lin Y, Meissner A, West AE, Griffith EC, Jaenisch R, Greenberg ME (2003) Derepression of BDNF transcription involves calcium-dependent phosphorylation of MeCP2. *Science* 302:885-9
- Clarke A (1996) Rett syndrome. *J Med Genet* 33:693-9
- Couvert P, Bienvenu T, Aquaviva C, Poirier K, Moraine C, Gendrot C, Verloes A, Andres C, Le Fevre AC, Souville I, Steffann J, des Portes V, Ropers HH, Yntema HG, Fryns JP, Briault S, Chelly J, Cherif B (2001) *MECP2* is highly mutated in X-linked mental retardation. *Hum Mol Genet* 10:941-6
- Dunn HG (2001) Importance of Rett syndrome in child neurology. *Brain Dev* 23 Suppl 1:S38-43
- Girard M, Couvert P, Carrie A, Tardieu M, Chelly J, Beldjord C, Bienvenu T (2001) Parental origin of de novo *MECP2* mutations in Rett syndrome. *Eur J Hum Genet* 9:231-6
- Guy J, Hendrich B, Holmes M, Martin JE, Bird A (2001) A mouse *Mecp2*-null mutation causes neurological symptoms that mimic Rett syndrome. *Nat Genet* 27:322-6
- Hagberg B, Aicardi J, Dias K, Ramos O (1983) A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia, and loss of purposeful hand use in girls: Rett's syndrome: report of 35 cases. *Ann Neurol* 14:471-9
- Hagberg B, Goutieres F, Hanefeld F, Rett A, Wilson J (1985) Rett syndrome: criteria for inclusion and exclusion. *Brain Dev* 7:372-3
- Hagberg B, Hagberg G (1997) Rett syndrome: epidemiology and geographical variability. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 6 Suppl 1:5-7

- Hagberg B, Hanefeld F, Percy A, Skjeldal O (2002) An update on clinically applicable diagnostic criteria in Rett syndrome. Comments to Rett Syndrome Clinical Criteria Consensus Panel Satellite to European Paediatric Neurology Society Meeting, Baden Baden, Germany, 11 September 2001. *Eur J Paediatr Neurol* 6:293-7
- Hagberg BA, Skjeldal OH (1994) Rett variants: a suggested model for inclusion criteria. *Pediatr Neurol* 11:5-11
- Horike S, Cai S, Miyano M, Cheng JF, Kohwi-Shigematsu T (2005) Loss of silent-chromatin looping and impaired imprinting of DLX5 in Rett syndrome. *Nat Genet* 37:31-40
- Harikrishnan KN, Chow MZ, Baker EK, Pal S, Bassal S, Brasacchio D, Wang L,
- Craig JM, Jones PL, Sif S, El-Osta A (2005) Brahma links the SWI/SNF chromatin-remodeling complex with MeCP2-dependent transcriptional silencing. *Nat Genet*. 37:254-64.
- Ishikawa A, Goto T, Narasaki M (1978) A new syndrome (?) of progressive psychomotor deterioration with peculiar stereotype movement and autistic tendency: a report of three cases. *Brain Development* 3
- Kaludov NK, Wolffe AP (2000) MeCP2 driven transcriptional repression in vitro: selectivity for methylated DNA, action at a distance and contacts with the basal transcription machinery. *Nucleic Acids Res* 28:1921-8
- Kishi N, Macklis JD (2005) Dissecting *MECP2* function in the central nervous system. *J Child Neurol* 20:753-9
- Klose RJ, Sarraf SA, Schmiedeberg L, McDermott SM, Stancheva I, Bird AP (2005) DNA binding selectivity of MeCP2 due to a requirement for A/T sequences adjacent to methyl-CpG. *Mol Cell* 19:667-78
- Kokura K, Kaul SC, Wadhwa R, Nomura T, Khan MM, Shinagawa T, Yasukawa T, Colmenares C, Ishii S (2001) The Ski protein family is required for MeCP2-mediated transcriptional repression. *J Biol Chem* 276:34115-21
- Laccone F, Huppke P, Hanefeld F, Meins M (2001) Mutation spectrum in patients with Rett syndrome in the German population: Evidence of hot spot regions. *Hum Mutat* 17:183-90
- Laccone F, Zoll B, Huppke P, Hanefeld F, Pepinski W, Trappe R (2002) *MECP2* gene nucleotide changes and their pathogenicity in males: proceed with caution. *J Med Genet* 39:586-8
- Lewis JD, Meehan RR, Henzel WJ, Maurer-Fogy I, Jeppesen P, Klein F, Bird A (1992) Purification, sequence, and cellular localization of a novel chromosomal protein that binds to methylated DNA. *Cell* 69:905-14
- Makova KD, Li WH (2002) Strong male-driven evolution of DNA sequences in humans and apes. *Nature* 416:624-6
- Mari F, Caselli R, Russo S, Cogliati F, Ariani F, Longo I, Bruttini M, Meloni I, Pescucci C, Schurfeld K, Toti P, Tassini M, Larizza L, Hayek G, Zappella M, Renieri A (2005) Germline mosaicism in Rett syndrome identified by prenatal diagnosis. *Clin Genet* 67:258-60
- Martinowich K, Hattori D, Wu H, Fouse S, He F, Hu Y, Fan G, Sun YE (2003) DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent BDNF gene regulation. *Science* 302:890-3
- Masuyama T, Matsuo M, Jing JJ, Tabara Y, Kit-suki K, Yamagata H, Kan Y, Miki T, Ishii K, Kondo I (2005) Classic Rett syndrome in a boy with R133C mutation of *MECP2*. *Brain Dev* 27:439-42
- Meins M, Lehmann J, Gerresheim F, Herchenbach J, Hagedorn M, Hameister K, Epplen JT (2005) Submicroscopic duplication in Xq28 causes increased expression of the *MECP2* gene in a boy with severe mental retardation and features of Rett syndrome. *J Med Genet* 42:e12
- Miltenberger-Miltenyi G, Laccone F (2003) Mutations and polymorphisms in the human methyl CpG-binding protein *MECP2*. *Hum Mutat* 22:107-15
- Mnatzakanian GN, Lohi H, Munteanu I, Alfred SE, Yamada T, MacLeod PJ, Jones JR, Scherer SW, Schanen NC, Friez MJ, Vincent JB, Minasian BA (2004) A previously unidentified *MECP2* open reading frame defines a new protein isoform relevant to Rett syndrome. *Nat Genet* 36:339-41
- Moog U, Smeets EE, van Roozendaal KE, Schoenmakers S, Herbergs J, Schoonbrood-Lenssen AM, Schrandt-Stumpel CT (2003) Neurodevelopmental disorders in males related to the gene causing Rett syndrome in females (*MECP2*). *Eur J Paediatr Neurol* 7:5-12
- Munne S, Alonso ML, Grifo J (1996) Case report: unusually high rates of aneuploid embryos in a 28-year old woman with incontinentia pigmenti. *Cytogenet Cell Genet* 72:43-5
- Rett A (1966) [On a unusual brain atrophy syndrome in hyperammonemia in childhood]. *Wien Med Wochenschr* 116:723-6
- Shahbazian M, Young J, Yuva-Paylor L, Spencer C, Antalffy B, Noebels J, Armstrong D, Paylor R, Zoghbi H (2002) Mice with truncated MeCP2 recapitulate many Rett syndrome features and display hyperacetylation of histone H3. *Neuron* 35:243-54
- Tao J, Van Esch H, Hagedorn-Greiwe M, Hoffmann K, Moser B, Raynaud M, Sperner J, Fryns JP, Schwinger E, Geetz J, Ropers HH, Kalscheuer VM (2004) Mutations in the X-linked cyclin-dependent kinase-like 5 (CDKL5/STK9) gene are associated with severe neurodevelopmental retardation. *Am J Hum Genet* 75:1149-54
- Trappe R, Laccone F, Cobilanschi J, Meins M, Huppke P, Hanefeld F, Engel W (2001) *MECP2* mutations in sporadic cases of Rett syndrome are almost exclusively of paternal origin. *Am J Hum Genet* 68:1093-101
- Traynor J, Agarwal P, Lazzeroni L, Francke U (2002) Gene expression patterns vary in clonal cell cultures from Rett syndrome females with eight different *MECP2* mutations. *BMC Med Genet* 3:12
- Tudor M, Akbarian S, Chen RZ, Jaenisch R (2002) Transcriptional profiling of a mouse model for Rett syndrome reveals subtle transcriptional changes in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:15536-41
- Vacca M, Filippini F, Budillon A, Rossi V, Mercadante G, Manzati E, Gualandi F, Bigoni S, Trabonelli C, Pini G, Calzolari E, Ferlini A, Meloni I, Hayek G, Zappella M, Renieri A, D'Urso M, D'Esposito M, MacDonald F, Kerr A, Dhanjal S, Hulthen M (2001) Mutation analysis of the *MECP2* gene in British and Italian Rett syndrome females. *J Mol Med* 78:648-55
- Van Esch H, Bauters M, Ignatius J, Jansen M, Raynaud M, Hollanders K, Lugtenberg D, Bienvenu T, Jensen LR, Geetz J, Moraine C, Marynen P, Fryns JP, Froyen G (2005) Duplication of the *MECP2* region is a frequent cause of severe mental retardation and progressive neurological symptoms in males. *Am J Hum Genet* 77:442-53
- Wahlstrom J (1987) Practical and theoretical considerations concerning the genetics of the Rett syndrome. *Brain Dev* 9:466-8
- Weaving LS, Christodoulou J, Williamson SL, Friend KL, McKenzie OL, Archer H, Evans J, Clarke A, Pelka GJ, Tam PP, Watson C, Lahooti H, Ellaway CJ, Bennetts B, Leonard H, Geetz J (2004) Mutations of CDKL5 cause a severe neurodevelopmental disorder with infantile spasms and mental retardation. *Am J Hum Genet* 75:1079-93
- Young JI, Hong EP, Castle JC, Crespo-Barreto J, Bowman AB, Rose MF, Kang D, Richman R, Johnson JM, Berget S, Zoghbi HY (2005) Regulation of RNA splicing by the methylation-dependent transcriptional repressor methyl-CpG binding protein 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:17551-8

**Korrespondenzadresse**

PD Dr. med. (I) Franco A. Laccone  
 Institut für Humangenetik  
 Heinrich-Düker Weg 12  
 37073 Göttingen  
 Tel. +49 551 399019  
 Fax +49 551 399303  
 flaccon@gwdg.de