

Osnovi savremene neurogenetike

Autor: Ivana Novaković

Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd

Sažetak

U odnosu na udeo genetike u etiologiji, neurološke bolesti se mogu svrstati u tri kategorije: monogeniski poremećaji, sindromi uslovljeni hromozomskim aberacijama i multifaktorski poremećaji. U tekstu su iznete molekularne osnove nasleđivanja i principi nasleđivanja monogeniskih i multifaktorskih neuroloških bolesti, sa primerima iz savremene neurogenetike. Poseban deo posvećen je genetičkom testiranju, kako u dijagnostičke svrhe kod obolelog, tako i u cilju prenatalne dijagnostike. Razmotrena su i pitanja presimptomatskog i prediktivnog testiranja kod neuroloških poremećaja, kao i stručne i etičke dileme pri sprovođenju genetičkih testova u neurološkoj praksi.

Danas je opšteprihvaćeno da sve bolesti čoveka, izuzev povreda – trauma, imaju u svojoj etiologiji i genetičku komponentu. U genetički uslovljene bolesti pre svega spadaju monogenske bolesti (bolesti uslovljene mutacijom jednog gena) i poremećaji vezani za hromozomske aberacije (promene u broju i strukturi hromozoma). Dovoljno je samo pomenuti da je registrovano više od 6000 monogeniskih bolesti kod čoveka, a da se jedno od 160 dece rađa sa nekom od hromozomskih aberacija. Pored toga, i multifaktorski poremećaji, u koje spadaju najčešća oboljenja savremenog čoveka – bolesti srca i krvnih sudova, maligne bolesti, šećerna bolest, psihijatrijska oboljenja i dr. – takođe imaju genetičku komponentu, izraženu kroz naslednu predispoziciju za obolevanje. Isto tako, jasan je udeo nasleđa u različitoj reakciji ljudi na lekove, infekcije i sl. [1,2,3].

Nasledna osnova čoveka

U telesnim ćelijama čoveka nalaze se 46 hromozoma, tj. 23 para hromozoma, koji su glavni nosioci naslednog materijala. Od toga su 22 para hromozoma autozomi, koji su isti u oba pola, a jedan par su polni hromozomi – XX kod žene, odnosno XY kod muškarca. Ovih 46 hromozoma čine kariotip čoveka, pri čemu treba napomenuti da su oni kao

strukture pod mikroskopom jasno uočljivi samo tokom deobe ćelije (metafazni hromozomi). Analizom broja i strukture hromozoma bavi se citogenetika, a poremećaji na ovom nivou uvek su povezani sa kliničkim sindromima (npr. trizomija hromozoma 21 kod Daunovog sindroma, delecija hromozoma 15 kod Angelmanovog i Prader-Vilijevog sindroma) [3,4].

Pojam genoma čoveka podrazumeva ukupan nasledni materijal tj. sadržaj DNK u ćelijama čoveka. Glavni funkcionalni delovi genoma su geni, koji su definisani kao delovi molekula DNK koji nose informaciju za sintezu polipeptida ili bilo koje funkcionalne RNK. Informacija o strukturi proteina zapisana je u vidu redosleda nukleotida u molekulu DNK, pri čemu niz od tri nukleotida predstavlja šifru za pojedinu amino-kiselinu. Ova univerzalna šifra predstavlja genetički kod, a pojedinačni tripleti nukleotida se nazivaju kodoni. Napomenućemo da je kod čoveka genetička informacija u genima diskontinuirana, tj. da postoje kodirajući regioni – egzoni, a između njih nekodirajući delovi – introni [4].

Pošto se DNK nalazi u jedru, ali i u mitohondrijama, genom čoveka zapravo obuhvata dva genoma:

1. Genom jedra, koji obuhvata 23 para hromozoma čoveka, sadrži približno tri milijarde baznih parova (bp) i 20 000–25 000 gena.

2. Mitohondrijski genom, predstavljen u jednom kružnom (cirkularnom) molekulu DNK koji ima oko 16 500 bp i sadrži svega 37 gena.

Poslednjih godina je aktuelan i pojam egzom, koji obuhvata skup svih kodirajućih regiona, tj. svih egzona u genomu. Kod čoveka egzom čini svega 1,5–3% celokupnog genoma.

Od opštih pojmova navodimo da genotip predstavlja genetičku konstituciju (za jedan ili više parova gena), dok fenotip obuhvata morfološka, fiziološka i biohemijska svojstva koja su uslovljena genotipom, uz moguće sadejstvo sa činiocima spoljne sredine [3,4].

Genske mutacije

Genska mutacija predstavlja promenu u strukturi gena, tj. preciznije u primarnoj strukturi molekula DNK. Različiti oblici gena, koji nastaju mutacijom, se nazivaju aleli. Kada se u paru gena nalaze dva ista alela, reč je o homozigotnoj konstituciji, dok heterozigot ima dva različita alela u genskom paru.

Najčešće su mutacije familijarne tj. nasleđene od roditelja, a prilikom analize rodoslova one se mogu sresti i kod bliskih srodnika. Za razliku od njih, *de novo* mutacije su one koje se prvi put javljaju kod obolele osobe i nisu ranije registrovane u porodici.

Za praksu je značajna podela na dominantne i recesivne mutacije: dominantne mutacije su one koje se ispoljavaju i u homozigotnom i u heterozigotnom stanju, dok se recesivne mutacije ispoljavaju samo kada se nađu u homozigotnom stanju [2,3,4].

U odnosu na vrstu promene u molekulu DNK koja se sastoji u izmeni broja i sadržaja nukleotida u okviru gena i vangerske DNK, mogu se razlikovati osnovni tipovi genskih mutacija: supstitucije baza, delecije i insercije. Četvrti tip mutacija, povećanje broja trinukleotidnih ponovaka, se može klasifikovati kao podvrsta insercija.

Supstitucije baza predstavljaju zamenu jedne baze drugom, tj. jednog baznog para drugim baznim parom. Supstitucija baza u kodirajućim regionima gena dovodi do izmene određenog kodona. U odnosu na značenje novoformiranog kodona ove mutacije mogu da budu pogrešnog smisla (*missense* – misens), besmislene (*nonsense* – nonsens), tihe (*silence* – ćutljive,) i neutralne. Kod misens mutacija dolazi do zamene jedne amino-kiseline drugom u proteinu, dok nonsens mutacije dovode do prekida sinteze proteina. U oba slučaja mogu se očekivati fenotipske posledice, u zavisnosti od tipa i konstitucije mutacije. Označavanje supstitucija može da bude u odnosu na promenu u molekulu DNK ili u odnosu na promenu na nivou proteina. Daćemo primer najčešće mutacije u ATP7B genu kod Wilsonove bolesti: c.3207C>A označava da je u pitanju zamena citozina adeninom na 3027. nukleotidu u DNK, dok p.H1069Q (ili His1069Gln) označava da je u proteinu na 1069. poziciji amino-kiselina histidin zamenjena glutaminom. Supstitucije mogu da budu locirane i u nekodirajućim regionima gena, kada utiču na aktivnost gena, obradu RNK i sl. Pomenućemo da se promene lokalizovane na jednom nukleotidu

nazivaju i tačkaste ili *point* mutacije, što obuhvata supstitucije, ali i male delecije i insercije [3,4].

Delecije predstavljaju gubitak segmenta DNK. Pritom može biti zahvaćen deo različite dužine, od samo jednog nukleotida do velikih blokova koji imaju više stotina hiljada baznih parova. Insercija tj. duplikacija je umetanje segmenta DNK u postojeći nukleotidni niz. Ukoliko se u umetnutom delu ponavlja struktura, tj. određeni redosled nukleotida iz samog gena, radi se o duplikaciji. Delecije i insercije mogu da imaju različite efekte na genetičku šifru i prevod kodirajućeg niza u specifičnu aminokiselinsku strukturu polipeptida. Najčešće se nishodno od mesta mutacije menja način očitavanja kodona, tj. pomera se okvir čitanja genetičke informacije, pa su to *frame-shift* (pomeranje okvira) mutacije. Posledica je prekida sinteze polipeptidnog lanca. Međutim, postoje i delecije i insercije koje ne menjaju sadržaj genetičke informacije nishodno od mesta mutacije. To se dešava kada se izgubljeni ili umetnuti segment nalazi između dva celovita kodona, a i on sam sadrži ceo (tačan) broj tripleta nukleotida. U tom slučaju i pored izmenjene strukture može da bude delimično očuvana funkcija proteina. Stoga ovakve mutacije obično imaju znatno blaže fenotipske efekte nego *frame-shift* mutacije. Tipičan primer nalazimo kod Dišenove i Bekerove mišićne distrofije (DMD i BMD), koje su uslovljene mutacijom u genu za distrofin. U oko 65–70% slučajeva postoje delecije jednog ili više egzona, a u još oko 5% duplikacije. *Frame shift* promene su povezane sa potpunim nedostatkom distrofina i teškim DMD fenotipom, dok kod BMD promene u genu ne pomeraju okvir čitanja, pa je distrofin delimično funkcionalan, a bolest ima kasniji početak i sporiji tok. Drugi karakterističan primer je GAG delecija u TOR1A genu, koja pogađa funkcionalni domen proteina i dovodi do DYT1 distonije. Kao interesantan primer navodimo i promene u PMP22 genu, gde delecije dovode do tomakulozne neuropatije (HNPP), a duplikacija do Šarko-Mari-Tut 1A neuropatije (CMT1A) [1,3,4].

Povećanje broja trinukleotidnih ponovaka, ili ekspanzija trinukleotida, je nova vrsta mutacije, koja je otkrivena devedesetih godina prošlog veka. Prema sadašnjim saznanjima, karakteristična je samo za čoveka. Naime, u strukturi pojedinih gena se normalno nalaze nizovi od tri nukleotida koji se ponavljaju. Broj ponovaka i kod zdravih

osoba varira, ali se kreće u određenim granicama. Mutaciju predstavlja patološko povećanje broja ponovaka, iznad kritičnog broja, a najčešće postoji i prelazna, tzv. „siva zona“ ponovaka, između normalnog i patološkog broja. Najčešće se javlja ekspanzija tripleta CAG, ali se sreću i druge kombinacije, a sama ekspanzija se može naći u različitim delovima gena. Kod Hantingtonove bolesti, spinocerebelarnih ataksija, Kenedijeve bolesti (spinobulbarna mišićna atrofija, SBMA) nalazimo ponovke u kodirajućim regionima odgovornih gena. Na primer, u genu odgovornom za Hantingtonovu bolest normalno se u nizu nalazi do 30 kopija CAG tripleta; bolest nastaje kada se broj ponovaka poveća iznad 40. Ponovci mogu da budu locirani i u nekodirajućim delovima gena, kao na primer kod sindroma fragilnog X (ponovci CGG u promotoru FMR1 gena), Fridrajhove ataksije (GAA ponovci u intronu FXN gena) ili kod miotoničke distrofije tip 1 (CTG ponovci u 3'UTR regionu MD1 gena). Zapažena je tendencija da se u porodicama sa ovim tipom mutacije iz generacije u generaciju povećava broj ponovaka, pa se one nazivaju dinamičke mutacije. To se klinički ispoljava kao sve ranija pojava bolesti, što je poznato kao fenomen anticipacije. Tipičan primer anticipacije je kongenitalna MD1 [1,3,4].

Monogenske bolesti – principi nasleđivanja

Monogenske bolesti su oboljenja koja se javljaju kao posledica mutacije jednog gena.

Mutirani geni locirani na jednom od 22 autozoma su odgovorni za autozomna oboljenja, a njihovo prenošenje sa roditelja na potomstvo se naziva autozomno nasleđivanje. Prema odnosu mutiranog i normalnog alela, nasleđivanje može da bude autozomno dominantno ili autozomno recesivno. Ako se odgovorni geni nalaze na X hromozomu, govorimo o oboljenjima i nasleđivanju vezanom za X hromozom, koje takođe može da bude dominantno ili recesivno.

Za nasleđivanje autozomnih monogenских bolesti važe klasična Mendelova pravila: svaki roditelj prenosi detetu jedan od dva alela smeštena na paru homologih hromozoma, odnosno jedinka nasleđuje po jedan alel od svakog roditelja. Nasleđivanje bolesti vezanih

za X hromozom ima svoje specifičnosti u odnosu na pol, ali se u načelu takođe primenjuju Mendelova pravila.

Netipične monogenske bolesti su one koje se nasleđuju vezano za Y hromozom i vezano za mitohondrijsku DNK. U ovim slučajevima ne važe Mendelova pravila. Poremećaji vezani za Y hromozom prenose se samo sa oca na sina, tj. holandrički. Geni na Y hromozomu kontrolišu uglavnom diferencijaciju pola i reproduktivnu funkciju kod muškarca. Van ove oblasti postoji mali broj poremećaja vezanih za Y hromozom. Mutacije vezane za mitohondrijsku DNK se nasleđuju isključivo preko majke – matroklino. Kod nasleđivanja poremećaja vezanih za mtDNK posebno treba obratiti pažnju na činjenicu da u ćeliji i tkivu mogu postojati i mutirane i nemutirane kopije molekula DNK. Ova pojava je označena kao heteroplazmija, a jasno je da od brojnog odnosa aberantnih i normalnih mtDNK zavisi i klinički fenotip. Neki od najčešćih poremećaja uslovljenih mutacijama u mtDNK su Leberova optička atrofija, MELAS (*Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like episodes*, tj. mitohondrijska encefalopatija sa laktičkom acidozom i epizodama sličnim moždanom udaru), MERRF (*Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers*, tj. mioklonička epilepsija sa crvenim krpastim vlaknima). Pomenute ekspanzije trinukleotidnih ponovaka se takođe netipično nasleđuju, imajući u vidu dinamičku prirodu mutacija [1,3,4].

Po pravilu, način prenošenja monogeniskih oboljenja je specifičan i prepoznatljiv na osnovu rodoslovnog stabla porodice. Simboli koji se koriste u prikazu rodoslova dati su na Slici 1.

U analizi klasičnih monogeniskih bolesti zanima nas genetička osnova, tj. genotip obolelog, kao i manifestacije bolesti, tj. fenotipske promene koje ona izaziva. Zapaža se da odnos između genotipa i fenotipa nije uvek lako predvidljiv, već može značajno da varira. Za ovu pojavu postoji više razloga, koji će biti izneti u daljem tekstu.

Najčešće, određena monogenska bolest nije uslovljena samo jednim tipom mutacije u odgovarajućem genu. Pojava većeg broja različitih mutacija jednog gena, koje sve dovode do istog poremećaja, naziva se alelska heterogenost. Tako je, na primer, kod

Vilsonove bolesti registrovano više stotina različitih mutacija u odgovornom ATP7B genu. U evropskoj, pa i našoj populaciji, najčešća je mutacija ATP7B H1069Q, koja obuhvata oko 70% svih mutiranih alela [5]. Takođe je česta situacija da mutacije različitih gena tj. različitih genskih lokusa dovode do istog poremećaja. Ova pojava se naziva lokusna heterogenost, ranije poznata i kao genokopija. Na primer, za familijarne forme distonija postoji oko 25 odgovornih gena (DYT lokusi), a za udno-pojasne mišićne distrofije čak oko 50 odgovornih gena (LGMD lokusi) [6,7,8]. Moguće je i da različite mutacije jednog istog gena rezultuju različitim oboljenjima. Na primer, inaktivacija gena za androgeni receptor izaziva poremećaj diferencijacije pola – sindrom testikularne feminizacije, dok trinukleotidna ekspanzija u istom genu izaziva Kenedijevu bolest (SBMA) [3].

Kod nekih monogenskih bolesti delovanje glavnog odgovornog gena može da bude modifikovano takozvanim genima modifikatorima. Na primer, kod Vilsonove bolesti je dokazano postojanje nekoliko gena modifikatora (npr. APOE).

Pored toga, u nekim slučajevima isti poremećaj može biti uslovljen bilo genskom mutacijom, bilo delovanjem faktora iz spoljne sredine. Ova pojava se naziva fenokopija, a primer je tzv. *HD-like* fenotip [1,3].

Karakteristike osnovnih tipova nasleđivanja monogenskih bolesti

Autozomno dominantno nasleđivanje

Kod autozomno dominantnog (AD) nasleđivanja dovoljno je prisustvo jednog mutiranog alela u paru gena da bi se bolest ispoljila. Dakle, bolest se ispoljava i kod homozigota (AA) i kod heterozigota (Aa), pri čemu je „A“ mutirani alel odgovoran za oboljenje, a „a“ nemutirani alel koji kontroliše normalno svojstvo. Na rodoslovnom stablu karakteristična je vertikalna distribucija poremećaja, a svaki oboleli trebalo bi da ima bar jednog obolelog roditelja od koga i nasleđuje mutaciju.

Deca rođena iz braka jednog zdravog i jednog obolelog roditelja koji je heterozigot (aaxAa) imaju istu verovatnoću od 50% da budu zdrava (aa) ili da budu bolesna (Aa).

Ukoliko je oboleli roditelj homozigot za mutaciju (AA), tada će i svi njegovi potomci biti oboleli (Aa) [3,4].

U praksi, autozomno dominantne mutacije u homozigotnom stanju su često letalne, ili se ispoljavaju u težoj formi kod nego kod heterozigota. Dve važne odlike dominantnih mutacija su penetrantnost i ekspresivnost. Penetrantnost ili probojnost je statistički pojam, koji govori kod kog broja nosilaca mutacije se ona zaista ispoljava u fenotipu. Tako je penetrantnost DYT1 mutacije (delecija tri bazna para u genu TOR1A) kod familijarne distonije svega 30–40%, što znači da oboleva svega 30–40% nosilaca ove promene [6]. Ovde se, dakle, srećemo sa odstupanjem od teorijskog pravila da sve jedinke sa mutiranim alelom moraju da budu bolesne tj. aficirane. Usled nepotpune penetrantnosti, moguće je i da roditelj kod koga nije manifestna bolest dobije obolelo dete. Ekspresivnost ili izražajnost označava različiti stepen fenotipskog ispoljavanja mutacije. Usled različite ekspresivnosti može da postoji čitav spektar manifestacija jednog poremećaja. Pomenuta DYT1 mutacija može da bude udružena sa različitim formama distonije, od fokalne do generalizovane. Treba imati na umu da ispoljavanje mutacije može da zavisi i od životne dobi nosioca, tj. da penetrantnost raste sa starošću. To je posebno karakteristično za neurodegenerativne bolesti, kao što je npr. Hantingtonova bolest, familijarna demencija, parkinsonizam. Varijabilna ekspresivnost i nepotpuna penetrantnost su veoma bitne karakteristike o kojima se mora voditi računa prilikom davanja genetičkog saveta porodicama sa autozomno dominantnim oboljenjima.

Kada neka mutacija ima potpunu penetrantnost (100%), ukoliko zdravi roditelji dobiju bolesno dete zaključujemo da se radi o novoj – *de novo* – mutaciji. Rizik za oboljevanje sledećeg deteta istog para se procenjuje kao mali. Međutim, opasnost se ne može potpuno zanemariti zbog mogućnosti postojanja mutacija samo u polnim žlezdama roditelja (germinativni ili gonadni mozaicizam). Rađanje drugog bolesnog deteta potvrdilo bi pretpostavku ovakvih, gonadnih mutacija. Na primer, kod DMD se procenjuje da je učestalost novih mutacija 30%, sa visokom stopom gonadnog mozaicizma [7,8]. Stoga u svim slučajevima naizgled *de novo* mutacija prilikom davanja genetičkog saveta ne treba smetnuti sa uma ovu mogućnost.

Do sada je ustanovljeno više hiljada autozomno dominantnih naslednih oboljenja kod ljudi, a najčešća i sa praktičnog stanovišta najvažnija neurološka oboljenja koja se nasleđuju na ovaj način su: Hantingtonova bolest, neurofibromatoza tip I, miotonična distrofija, tuberozna skleroza, spinocerebelarne ataksije, Šarko-Mari-Tut polineuropatija, tomakulozna neuropatija i dr.

Autozomno recesivno nasleđivanje

Autozomno recesivna oboljenja su ona za čije je ispoljavanje neophodno prisustvo mutacije u homozigotnom stanju (aa) tj. oba alela jednog genskog para moraju da budu mutirana. Podsećamo da se na alelnom paru mogu nalaziti dve različite mutacije, što je označeno kao složeni heterozigot. Osobe sa genotipovima Aa i AA će biti zdrave („A“ je alel odgovoran za normalno svojstvo, dok je „a“ alel za izmenjeno svojstvo – oboljenje). Na rodoslovnom stablu tipična je horizontalna distribucija poremećaja, pri čemu često zdravi roditelji dobijaju obolelo dete [3,4].

Verovatnoća da dva zdrava roditelja koji su prenosioci mutiranog gena (AaxAa) dobiju zdravo dete (AA ili Aa) je $\frac{3}{4}$, dok verovatnoća rađanja bolesnog deteta (aa) iznosi $\frac{1}{4}$. Ako je u porodici rođeno bolesno dete, rizik za ponovnu pojavu bolesti je isti za svaku novu trudnoću, i iznosi $\frac{1}{4}$.

Brakovi u srodstvu, usled veće proporcije zajedničkih gena, potencijalno i onih mutiranih, nose veći rizik za pojavu AR oboljenja u potomstvu [3,4].

Kod ljudi je do sada identifikovano oko dve hiljade autozomno recesivnih oboljenja. Neka od najčešćih i sa medicinskog stanovišta najvažnijih neuroloških bolesti koje se nasleđuju na ovaj način su: AR mentalna retardacija, spinalna mišićna atrofija, Vilsonova bolest, Fridrajhova ataksija, kao i različite metaboloopatije sa neurološkom manifestacijom.

Dominantno nasleđivanje vezano za X hromozom

Osnovna karakteristika ovog tipa nasleđivanja je da je prisustvo mutiranog gena na jednom X hromozomu u genotipu osobe, bez obzira na pol, dovoljno da dođe do ispoljavanja bolesti. Osobe ženskog pola češće oboljevaju od muškog pola pošto mutaciju mogu da naslede i od oca i od majke, dok muškarci X hromozom sa mutacijom mogu da dobiju samo od majke. Bolestan otac će preneti oboljenje svim ćerkama a nijednom sinu, dok će bolesna majka (heterozigot) bolest preneti i ženskoj i muškoj deci sa verovatnoćom od 50%. Zapaženo je, takođe, da se kod žena bolest ispoljava u blažoj formi i da pokazuje veće varijacije, što se povezuje sa različitim obrascima inaktivacije X hromozoma. Oboljenja koja se nasleđuju po ovom tipu su retka, a primer je Retov sindrom (MECP2 gen), koji je letalan u muškom polu, kao i kod ženskih homozigota za mutaciju [1,3].

Recesivno nasleđivanje vezano za X hromozom

Kod ovog tipa nasleđivanja oboleli su najčešće muškog pola. Naime, muškarci poseduju samo po jednu kopiju gena na X hromozomu (hemizigotnost), pa se i recesivna mutacija odmah izražava u fenotipu. Kod žena je neophodno prisustvo mutacije na oba X hromozoma, tj. na oba alela iz para, da bi se bolest ispoljila. Žena – heterozigot je, po pravilu, fenotipski normalna, ali prenosi bolest na mušku decu. Ipak, na fenotip utiče obrazac inaktivacije X hromozoma. Ukoliko dođe do pretežne inaktivacije normalnog X hromozoma pojaviće se, najčešće blagi, znaci bolesti. Ovakve žene se nazivaju manifestnim prenosiocima. Postoji još nekoliko retkih situacija u kojima se mutacija ispoljava kod osobe ženskog pola: monozomija X, strukturna aberacija X hromozoma sa tačkom prekida u odgovornom genu i sl. U praksi je najčešće da majka koja je fenotipski zdravi nosilac mutacije prenosi bolest muškom potomstvu. Dakle, u braku žene prenosioca i zdravog muškarca (X^*XxXY) rizik za oboljevanje zavisi pre svega od pola deteta. Rizik da će muško dete biti obolelo (X^*Y) iznosi 50%, dok su ćerke fenotipski zdrave, sa verovatnoćom od 50% da su prenosioci bolesti (X^*X). U braku obolelog muškarca i zdrave žene (X^*YxXX) svi sinovi će biti zdravi (XY), a sve ćerke prenosioci (X^*X). Primeri neuroloških XR bolesti su: Dišenova i Bekerova mišićna distrofija, Kenedijeva bolest (SBMA), adrenoleukodistrofija [1,3].

Multifaktorski poremećaji

Kao što je pomenuto, multifaktorski poremećaji su posledica sadejstva genetičke predispozicije i faktora spoljne sredine. I u neurogiji, najčešće bolesti pripadaju ovoj grupi, a primer su moždani insulti, epilepsije, parkinsonizam, demencija. Zbog složene etiološke osnove rizik za ponovnu pojavu bolesti u porodici ne možemo izračunati po Mendelovim pravilima, već na osnovu dostupnih epidemioloških podataka, tj. empirijski. Taj rizik se obično kreće do 10%, i zavisi od stepena srodstva, uslova života i dr. Potraga za genskim polimorfizmima koji bi bili jasni markeri predispozicije za bolest nije dala očekivane rezultate. Poznato je da varijanta e4 u genu APOE predstavlja predispoziciju za Alchajmerovu bolest, ali je praktična primena ovog saznanja diskutabilna (videti kasnije). Za sada se samo kod tromboza, uključujući i cerebralnu trombozu, rutinski analiziraju varijante u genima za faktor V koagulacije (faktor V Lajden), za faktor II koagulacije (FII G20201A) ili za enzim MTHFR (MTHFR C677T) [2,9]. Međutim, savremena genetika je zapazila da u okviru datog multifaktorskog poremećaja postoji 10–15% slučajeva sa jasnim monogenским obrascem nasleđivanja. Takvi primeri su sada već dobro proučeni, oni pomažu u shvatanju molekularne prirode poremećaja, a zahvaćenoj porodici daju mogućnost za mnogo precizniji genetički savet. Na primer, kod Parkinsonove bolesti oko 15% slučajeva su monogeniski uslovljeni (geni Parkin, PINK, DJ1, SCNA, VSP) i nalaze se prevashodno u grupi bolesnika sa ranim početkom simptoma (Slika 2) [10,11]. I kod amiotrofičke lateralne skleroze (ALS) porodična istorija postoji kod 10–15% bolesnika, a oko 20% njih ima detektovane mutacije u SOD1 genu; u novije vreme su mutacije otkrivene i u FUS, ANG, TARDBP, C9orf72 i drugim genima [1]. Kod familijarnih formi Alchajmerove demencije se nalaze dominantno nasledne mutacije u genima APP, PSN1, PSN2 [1,12]. I u okviru entiteta moždanih udara nalaze se monogeniski sindromi, kao što je CADASIL, uslovljen mutacijom u NOTCH3 genu [13].

Genetičko testiranje

Tokom poslednjih 15 godina genetičko testiranje je postalo sastavni deo neurološke prakse. U kliničkoj neurologiji, genetički testovi se primenjuju u različitim oblastima, od neuromišićnih poremećaja do demencije, epilepsije i poremećaja pokreta. Iz tog razloga,

važno je da se dobro razumeju mogućnosti novih tehnologija, aktuelni standardi u medicinskoj i kliničkoj genetici i mogući rizici njihove neadekvatne upotrebe. Iz godine u godinu se otkrivaju novi geni i genske mutacije odgovorni za nastanak bolesti, kao i druge genetičke varijante povezane sa bolestima kao faktori predispozicije. Nova oblast farmakogenetike se takođe intenzivno razvija. Zbog stalnih promena i dopuna, posebno je važno znati gde mogu da se nađu relevantne informacije o genetičkim testovima, njihovoj upotrebi i tumačenju. Na raspolaganju je više odličnih *online* baza, koje daju informacije o savremenoj terminologiji i konceptima u neurogenetici, o genetičkoj osnovi neuroloških poremećaja, mogućnostima testiranja i genetičkog savetovanja.

Do sada se u praksi kao najkorisniji pokazao sajt GeneTests (<http://www.genetests.org>), koji je usmeren upravo na neurogenetiku i pruža kratke i sadržajne kliničke i genetske opise stanja, daje pregled vrsta mutacija u vezi sa datom bolešću, kao i ponudu laboratorija koje vrše odgovarajuće genetičke testove. Ovaj sajt daje i dodatne linkove korisne kako za lekare, tako i za pacijente.

Genetički test se definiše kao „analiza koja se radi u kliničke svrhe, a obuhvata ispitivanje DNK, RNK, hromozoma, proteina i pojedinih metabolita u cilju otkrivanja genotipa, mutacije, fenotipa ili kariotipa vezanih za naslednu bolest” [2,3]. Ipak, važno je podsetiti se da jednostavno rukovanje sa pacijentom može poslužiti kao dijagnostički test za miotoničnu distrofiju, dok sa druge strane magnetna rezonanca (NMR) mozga omogućava otkrivanje asimptomatskog brata deteta sa tuberoznom sklerozom. Rezultati ovih testova, baš kao i DNK testovi, mogu imati dugoročne posledice za pacijente i njihove porodice.

Svi testovi u medicinskoj genetici obavljaju se nakon davanja informisanog pristanka ispitanika. Pojedini uzorci na kojima je vršeno testiranje (na primer uzorci krvi ili DNK) mogu da se čuvaju, i da se kasnije koriste u istraživačkim studijama.

Primena genetičkih testova može biti korisna u različitim oblastima i fazama kliničkog rada. U neurologiji su najznačajnija dijagnostička ispitivanja kod sumnje na monogenske

bolesti. Da bi se razmotrili svi biološki, etički i psihosocijalni aspekti genetičkog testiranja preporučuje se timski rad neurologa i genetičara.

Korišćenje genetičkih testova za procenu predispozicije tj. rizika kod multifaktorskih bolesti je posebna tema.

Dijagnostički testovi

Genetičko testiranje kod obolele osobe daje mogućnost postavljanja precizne i konačne dijagnoze. Na tome se zasniva adekvatno dalje praćenje bolesnika i davanje prognoze, omogućava se psihološko rasterećenje i genetičko savetovanje pacijenta i njegove porodice.

Negativne posledice dijagnostičkog genetskog testiranja mogu nastati usled korišćenja testa u neprikladnim situacijama ili usled pogrešnog tumačenja rezultata. Potreban je poseban oprez u načinu saopštavanje negativnog rezultata dijagnostičkog genetičkog testa. Ukoliko nije detektovana promena u ispitivanom materijalu, to još uvek ne isključuje naslednu prirodu oboljenja. Svaki genetički test ima svoju oblast primene, domete, ali i ograničenja. Ilustrativan je primer testiranja Dišenove mišićne distrofije (DMD). Rutinska genetička analiza, koja se radi već više od dve decenije, je detekcija delecija u DMD genu. Nalaz delecije potvrđuje DMD, ali odsustvo delecije ne isključuje ovu dijagnozu. Naime, oko 30% bolesnika ima neku drugu vrstu promene u genu, koja se mora ispitati drugom vrstom testa [7,8].

Izveštaj vezan za obavljeno dijagnostičko genetičko testiranje treba da sadrži sažetu i jasnu informaciju o vrednostima testa i tumačenju rezultata.

Prenatalno testiranje

Standardno, materijal za genetičko testiranje fetusa moguće je dobiti amniocentezom, biopsijom horionskih resica ili punkcijom pupčanika. Takođe se može analizirati samo jedna ćelija embriona, nakon *in vitro* fertilizacije. Prenatalno i preimplantaciono testiranje je u domenu genetičara i akušera, i ne mora direktno da uključuje i neurologa. Međutim, neurolog koji dijagnostikuje genetski uslovljeno stanje treba da zna da će pacijent,

roditelj, ili drugi članovi porodice želeći informacije o prenatalnom testiranju i treba da pruži odgovarajuće informacije ili preporuke. Posebno je delikatno dati mišljenje o prenatalnoj dijagnostici za bolesti kasnog početka (HB), ili u slučaju varijabilnog ispoljavanja mutacije. Poznato je da se neke mutacije ispoljavaju na različiti način čak i u okviru iste porodice (nepotpuna penetrantnost i različita ekspresivnost). Na primer, pomenuto je da mutacija u DYT1 genu (GAG delecija) može dovesti do teškog oblika distonije, ali i do vrlo blage klinčke slike, sve do potpunog odsustva simptoma [1,6].

Prediktivno testiranje i testiranje prenosilaca

Prediktivno testiranje se odnosi na upotrebu genetičkog testa kod osoba bez simptoma bolesti, da bi se u asimptomatskoj fazi utvrdilo prisustvo ili odsustvo promene u naslednom materijalu. Ovaj tip testa je značajan za članove porodice obolelih od dominantno naslednih bolesti kasnog početka, kao što su miotonična distrofija, HB i SCA. Želimo da podvučemo da prediktivno testiranje još uvek prate brojne kontradikcije. Stoga se u mnogim sredinama, uključujući i našu, prediktivno testiranje u ovom trenutku u načelu ne preporučuje.

Testiranje prenosilaca je značajno za članove porodice (roditelji, braća, sestre, deca obolelog), posebno za autozomno recesivne ili X-vezane poremećaje, uključujući i veliki broj metaboličkih poremećaja, sindrom fragilnog X i drugo. Posebno pitanje je utvrđivanje statusa prenosioca u dečjem dobu, tj. kod maloletnih osoba. U načelu, bilo kakvo genetičko testiranje dece se preporučuje samo ukoliko za to postoje jasne medicinske indikacije i neposredna dobrobit za zdravlje ispitanika.

Testiranje rizika tj. podložnosti kod multifaktorskih bolesti

Kao što je već rečeno, savremena genetika nastoji da identifikuje genetičke faktore predispozicije za nastanak ovih poremećaja [2,3,14]. Jedan od primera odnosi se na Alchajmerovu bolest. Utvrđeno je da varijanta u genu za apolipoprotein E, označena kao alel e4, predstavlja jasan predisponirajući faktor za nastanak Alchajmerove bolesti. Iako postoji test za detekciju e4 alela, postavlja se pitanje da li je opravdano rutinski vršiti ovu

analizu, s obzirom na to da za sada ne postoji način da se spreči nastanak bolesti. Aktuelni stavovi su da ne treba vršiti ovo testiranje pre nego što se pojave simptomi bolesti, tj. u presimptomatskoj fazi. Međutim, kada se postavi dijagnoza Alchajmerove bolesti, ima svrhe da se obavi ovaj genetički test radi odluke o adekvatnoj terapiji. Naime, pokazalo se da neki od lekova (kao što je takrin) ostvaruju znatno bolji efekat kod osoba koje nemaju e4 alel [1,2,3].

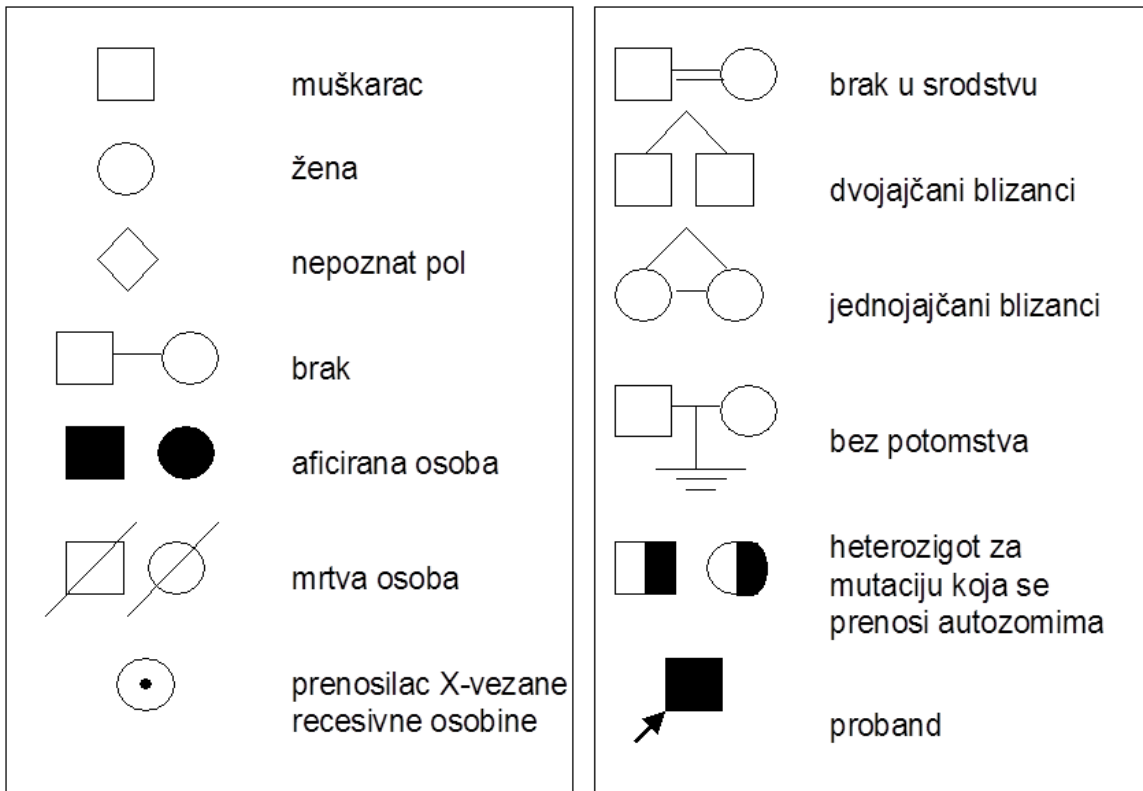
Na samom kraju ovog teksta ističemo da se medicinska genetika i neurogenetika nalaze na pragu potpuno nove ere. Analiza kompletne nasledne osnove pojedinca (sekvenciranje čitavog genoma) postaje stvarnost. Danas je moguće uraditi ovo ispitivanje za svega nekoliko dana, po prihvatljivoj ceni. Čini se da se ostvaruju predviđanja eksperata da će to postati standardna, gotovo rutinska analiza. Već su se pojavili predlozi da se ispitivanje čitavog genoma uvede kao skrining program kod novorođenčadi, ali to, barem za sada, nije prihvaćeno. U svetlu ovih podataka, pitanja koja smo razmatrali u tekstu – pitanje davanja pristanka, raspolaganja informacijama, sprečavanja diskriminacije, otkrivanja prenosilaca i sl. – postaju aktuelnija nego ikada do sada.

Reference

1. Kostić V, Romac S, Apostolski S. (Ed.) Genetička osnova neuroloških bolesti. Spekter, Beograd, 1999.
2. Novaković I, Maksimović N, Pavlović A, Žarković M, Rovčanin B, Pekmezović T, Cvetković D. Introduction to molecular genetic diagnostics. *J. Med. Biochem.* 2014; 33(1): 3–7.
3. Turnpenny P, Ellard S. Emeryjevi Osnovi medicinske genetike, Data Status, Beograd, 2009. (Prevod).
4. Papović R. et al. Humana genetika, CIBID, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, 2012.
5. Tomić A, Dobričić V, Novaković I, Svetel M, Pekmezović T, Kresojević N, Potrebić A, Kostić VS. Mutational analysis of ATP7B gene and the genotype-phenotype correlation in patients with Wilson's disease in Serbia. *Vojnosanit Pregl.* 2013; 70(5): 457–62.
6. Dobričić VS, Kresojević ND, Svetel MV, Janković MZ, Petrović IN, Tomić AD, Novaković IV, Kostić VS. Mutation screening of the DYT6/THAP1 gene in Serbian patients with primary dystonia. *J Neurol.* 2013; 260(4): 1037–42.
7. Novaković I. Analiza genotipa kod bolesnika sa Bekerovom mišićnom distrofijom. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, 1998.

8. Rakočević Stojanović V: Mišićne distrofije. CIBID Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, 2012.
9. Novaković I, Cvetković D, Maksimović N. In Thrombophilia (Ed. A. L. Tranquilli), *InTech*, 2011, 59.
10. Lohmann K and Klein K. Genetics of Parkinson's disease. in Continuum, lifelong learning in neurology. Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2008; 14(2), 90–113.
11. Kresojević N, Mijajlović M, Perić S, Pavlović A, Svetel M, Janković M, Dobričić V et al. Transcranial sonography in patients with Parkinson's disease with glucocerebrosidase mutations. *Parkinsonism Relat Disord*. 2013; 19(4): 431–5.
12. Dobricic V, Stefanova ED, Jankovic M, Gurunlian N, Novakovic IV, Hardy J, Kostic VS, Guerreiro R. Genetic testing in familial and young-onset Alzheimer's disease: mutation spectrum in a Serbian cohort. *Neurobiology of aging*, 2012; 33(7): 1481.e7-1481.e12.
13. Pavlovic AM, Dobricic V, Semnic R, Lackovic V, Novakovic I, Bajcetic M, Sternic N. A novel Notch3 Gly89Cys mutation in a Serbian CADASIL family. *Acta Neurol Belg*. 2013; 113(3): 299–302.
14. Svetel M, Pekmezovic T, Markovic V, Novaković I, Dobričić V, Djuric G, Stefanova E, Kostić V. No Association between Brain-derived neurotrophic factor G196A polymorphism and clinical features of Parkinson's Disease. *Eur Neurol*. 2013; 70(5-6): 257–62.

Slika 1 – Simboli koji se koriste pri crtanju rodoslova



Slika 2 – Šematski prikaz genetičke osnove Parkinsonove bolesti. Modifikovano po Lohman K and Klein C. Genetics of Parkinson's disease. in Continuum, lifelong learning in neurology. Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2008; 14(2), 90–113 [10].

