

UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET

Adrijan Sarajlija

Epidemiološko-klinička studija  
Retovog sindroma u populaciji Srbije

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2014. godine

UNIVERSITY OF BELGRADE  
MEDICAL FACULTY

Adrijan Sarajlija

Epidemiological and Clinical Study of  
Rett Syndrome in population of Serbia

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2014

**Mentor:**

Prof. dr Milena Đurić,  
Medicinski fakultet u Beogradu,

---

**Komentor:**

Doc. dr Darija Kisić Tepavčević,  
Medicinski fakultet u Beogradu

---

**Članovi komisije:**

Prof. dr Tatjana Pekmezović,  
Medicinski fakultet u Beogradu,  
predsednik komisije

---

Prof. dr Predrag Minić,  
Medicinski fakultet u Beogradu

---

Prof. dr Slobodan Obradović,  
Medicinski fakultet u Kragujevcu

---

## **Epidemiološko-klinička studija Retovog sindroma u populaciji Srbije**

Retov sindrom (RTT) je težak neurorazvojni poremećaj koji se uglavnom susreće kod osoba ženskog pola. U različitim delovima sveta RTT ima prevalenciju od 0,4-2,23:10000 devojčica. Kod većine bolesnika nastaje usled mutacija MECP2 gena.

*Ciljevi rada:* ispitavanje epidemioloških i kliničkih karakteristika RTT u populaciji Srbije; ispitivanje genotipsko-fenotipske korelacije u našoj sredini, te prognostičkog značaja odabranih demografskih, kliničkih i genetičkih varijabli; ispitivanje depresivnosti i kvaliteta života majki koje se staraju o deci sa RTT.

*Materijal i metode:* Studija je obuhvatila 102 bolesnice kod kojih je RTT dijagnostikovano između 1987. i 2011. godine. Za utvrđivanje epidemioloških parametara (incidencije i prevalencije) korišćeni su podaci o vitalnoj statistici Republičkog zavoda za statistiku Srbije. Korišćena je medicinska dokumentacija Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije i rezultati molekularnih analiza učinjenih u laboratoriji Biološkog fakulteta u Beogradu. Za analizu rezultata korišćene su deskriptivne i analitičke statističke metode.

*Rezultati:* Incidencija RTT u Srbiji iznosi 0,586:10000 živorođene ženske dece. Većina bolesnica (86%) ima klasični oblik RTT. Najčešće mutacije u MECP2 genu u populaciji bolesnica sa RTT u Srbiji su T158M, R255X i R168X. Epilepsija je prisutna kod 70,5% obolelih u ispitivanoj grupi. Prema rezultatima Kaplan-Meierove funkcije preživljavanja, bolesnice sa RTT u Srbiji imaju veći rizik za rani smrtni ishod nego što pokazuju studije iz razvijenih sredina. Najčešći uzrok smrti ovih bolesnica u Srbiji bila je pneumonija. Klinički skor težine bolesti (Clinical Severity Score, CSS) je bio najsnažniji prediktor smrtnog ishoda kod RTT. Pokazana je visoka prevalencija teške depresije od 30,6% među majkama koje se staraju o deci sa RTT.

*Zaključak:* Incidencija RTT u Srbiji odgovara nalazima velikih studija iz drugih zemalja. Postoji genotipsko-fenotipska korelacija za više kliničkih aspekata RTT. Potvrđena je vrednost skora CSS u proceni težine stanja i predikciji smrtnog ishoda. Neophodno je planirati psihosocijalne interventne mere u porodicama obolelih zbog visoke prevalencije depresije među majkama dece sa RTT.

*Ključne reči:* Retov sindrom, incidencija, genotipsko-fenotipska korelacija

*Naučna oblast:* Epidemiologija

## **Epidemiological and clinical study of Rett syndrome in population of Serbia**

*Introduction:* Rett Syndrome (RTT) is severe neurodevelopmental disorder which mainly affects females. Prevalence of RTT ranges from 0,4-2,23:10000 girls in different populations worldwide. Majority of cases are caused by mutations in MECP2 gene.

*Objectives:* investigation of epidemiological and clinical features of RTT in population of Serbia; investigation of genotype-phenotype correlation and evaluation of prognostic value of selected demographic, clinical and genetic factors; investigation of depression and health-related quality of life in mothers giving care to children with RTT.

*Material and methods:* Study included 102 female patients with RTT diagnosed between 1987. and 2011. Estimation of epidemiological parameters (incidence and prevalence) was based on vital statistics provided by Statistical Office of the Republic of Serbia. Medical documentation of Mother and Child Health Institute of Serbia was used, as well as genetic diagnosis reports from Biological Faculty in Belgrade. Data analysis included descriptive and analytical statistical methods.

*Results:* Incidence of RTT in Serbia is estimated at 0,586:10000 live female births. Majority of patients (86%) have classical type of RTT. Most common mutations in Serbian population with RTT were T158M, R255X and R168X. Epilepsy was present in 70,5% of our group. According to Kaplan-Meier survival analysis, Serbian RTT patients had higher risk for earlier mortality than shown in studies from developed countries. Pneumonia was the most frequent cause of death in our RTT group. Clinical Severity Score (CSS) was the strongest single predictor of lethal outcome in RTT patients. High prevalence of severe depression (30,6%) was noted in mothers giving care to children with RTT.

*Conclusion:* Incidence of RTT in Serbia corresponds to findings of major epidemiological studies. The genotype-phenotype correlation is present regarding certain clinical aspects of RTT. Value of CSS in evaluating severity of the RTT and predicting fatal outcome was reconfirmed. There is a necessity of psychosocial interventional measures directed at families with RTT children due to high prevalence of depression in care giving mothers.

*Keywords:* Rett syndrome, incidence, genotype-phenotype correlation

*Scientific area:* Epidemiology

# SADRŽAJ

<b>I UVOD U ISTRAŽIVANJE .....</b>	<b>1</b>
I 1. Retov sindrom - osnovni pojmovi .....	1
I 2. Istorijat.....	3
I 3. Epidemiološke odlike Retovog sindroma.....	6
I 4. Genetika i patogeneza Retovog sindroma .....	11
I 4.1. Struktura i funkcija MeCP2 proteina i MECP2 gena .....	11
I 4.2. Mutacija u MECP2 i drugim genima koje izazivaju Retov sindrom.....	15
I 4.3. Mutacije u MECP2 genu kod drugih oboljenja i kod muškog pola.....	16
I 4.4. Efekat inaktivacije X hromozoma na funkciju MECP2 gena.....	18
I 4.5. Mete za delovanje MeCP2 proteina.....	18
I 5. Genotipsko-fenotipska korelacija u Retovom sindromu .....	20
I 6. Klinička slika i dijagnostički kriterijumi za Retov sindrom.....	26
I 6.1. Klinički stadijumi Retovog sindroma .....	26
I 6.2. Dijagnostički kriterijumi za Retov sindrom .....	28
I 6.3. Atipični oblici Retovog sindroma.....	32
I.6.3.1. Oblik sa očuvanim govorom.....	32
I.6.3.2. Oblik sa ranim početkom napada .....	32
I.6.3.3. Kongenitalna varijanta RTT .....	33
I 6.4. Epilepsija u Retovom sindromu.....	33
I.6.4.1. Epidemiološki aspekti epilepsije u Retovom sindromu.....	33
I.6.4.2. EEG poremećaji kod Retovog sindroma .....	35
I.6.4.3. Lečenje epilepsije kod obolelih od Retovog sindroma.....	36
I.6.5. Respiratorne manifestacije RTT .....	39
I.6.6. Kardiološke manifestacije RTT .....	41
I.6.7. Gastroenterološki i nutritivni poremećaji u Retovom sindromu .....	43
I.6.8. Koštane manifestacije Retovog sindroma.....	45
I.7. Kvalitet života roditelja koji se staraju o deci sa Retovim sindromom .....	46
<b>II CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>48</b>
<b>III METODI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>49</b>
<b>IV REZULTATI ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>55</b>
IV.1. Epidemiologija Retovog sindroma u Srbiji .....	55
IV 1.1. Incidencija Retovog sindroma u Srbiji .....	55
IV 1.2. Prevalencija Retovog sindroma u Srbiji .....	57

IV 1.3. Uzrast u vreme postavljanja dijagnoze .....	58
IV.1.4. Genotipski profil (molekularna epidemiologija) bolesnica sa Retovim sindromom u Srbiji.....	59
IV.1.5. Uzroci hospitalizacije i smrtnosti.....	60
IV.2. Genotipsko fenotipska korelacija kod pacijentkinja sa Retovim sindromom .....	65
IV.3. Klinička slika Retovog sindroma.....	74
IV.3.1. Neurorazvojni aspekti Retovog sindroma.....	74
IV.3.2. Epilepsija u Retovom sindromu.....	79
IV.3.3. Respiratorni poremećaji u Retovom sindromu .....	85
IV.3.4. Gastrointestinalne i nutritivne manifestacije Retovog sindroma .....	87
IV.3.5. Poremećaji telesnog rasta i razvoja kod obolelih od Retovog sindroma .....	91
IV.3.6. Koštani poremećaji kod Retovog sindroma.....	95
IV.3.7. Regresiona analiza faktora rizika za smrtni ishod kod Retovog sindroma.....	102
IV.4. Rezultati ispitivanja kvaliteta života povezanog sa zdravljem (HRQoL) i depresije kod majki dece obolele od Retovog sindroma .....	104
<b>V DISKUSIJA .....</b>	<b>108</b>
V.1. Epidemiologija Retovog sindroma.....	108
V.2. Molekularna epidemiologija i genotipska-fenotipska korelacija .....	112
V.3 Klinička slika Retovog sindroma .....	116
IV.3.1. Neurorazvojni aspekti Retovog sindroma.....	116
V.3.2. Epilepsija u Retovom sindromu .....	117
V.3.3. Respiratorni poremećaji u Retovom sindromu.....	121
V.3.4. Poremećaji gastrointestinalnih funkcija i uhranjenosti u Retovom sindromu..	122
IV.3.5. Koštani poremećaji kod Retovog sindroma.....	123
V.4. Kvalitet života povezan sa zdravljem i depresija kod majki dece sa Retovim sindromom .....	128
<b>VI ZAKLJUČCI .....</b>	<b>131</b>
<b>VII LITERATURA .....</b>	<b>134</b>
<b>VIII PRILOZI.....</b>	<b>149</b>

# I UVOD U ISTRAŽIVANJE

## I.1. Retov sindrom – osnovni pojmovi

Retov sindrom (RTT) je neurorazvojni poremećaj koji je opisao Andreas Rett, dečiji neurolog iz Austrije (Rett, 1966). Ovo oboljenje se uglavnom javlja kod osoba ženskog pola i kod većine bolesnika ima težak klinički tok koji značajno utiče na dužinu i kvalitet života obolelih (Hagberg i sar, 1983). Prevalencija RTT se u različitim populacijama kreće od 0,7-1,0:10000 osoba ženskog pola (Kerr i sar, 1985; Laurvick i sar, 2004). Mutacije u genu za methyl-CpG-binding protein-2 (*MECP2*) su 1999. godine identifikovane kao genetički uzrok RTT i smatra se da je više od 80% slučajeva klasičnog RTT uzrokovano mutacijom u ovom genu (Amir i sar, 1999). Gen *MECP2* ima ulogu u regulaciji ekspresije brojnih gena, a poseban značaj ima u procesu sazrevanja mozga (Bienvenu i sar, 2006). Ovaj gen je lociran na X hromozomu, a razlike u težini kliničke slike između bolesnika se delimično povezuju sa obrascem inaktivacije X hromozoma u moždanim ćelijama, a time i stepenom aktivnosti normalnog u odnosu na mutirani gen (Young i sar, 2004). Kod veoma retkih osoba muškog pola koje obole od Retovog sindroma, bolest može imati širok spektar kliničkog ispoljavanja, od teške neonatalne encefalopatije do blagog stepena mentalne retardacije (Kankirawatana i sar, 2006). Opisano je više od 300 mutacija u *MECP2* genu do sada, a one se međusobno razlikuju po lokalizaciji unutar gena, tipu promene i težini kliničke slike sa kojom se povezuju (RettBASE: IRSF *MECP2* Variation Database <http://mecp2.chw.edu.au>; Neul i sar, 2008; Halbach i sar, 2012). Utvrđeno je da izvesni polimorfizmi u drugim genima mogu značajno modifikovati težinu kliničke slike bolesnika sa RTT, te da pored mutacija u *MECP2* genu, uzrok nastanka atipičnih formi bolesti mogu biti mutacije u *CDKL5*, *FOXP1* i drugim genima (Bahi-Buisson i sar, 2008, Ariani i sar, 2008). Postoje slučajevi ovog oboljenja koji, iako klinički jasno prepoznatljivi, nemaju razjašnjenu genetičku osnovu (Matijević i sar, 2009).

Kod više od 99% dijagnostikovanih slučajeva Retovog sindroma postoji negativna porodična anamneza za ovu bolest. Razlog za to leži u činjenici da mutacije u *MECP2* genu



nastaju sporadično (*de novo*), te da stoga nisu prisutne kod roditelja dece sa RTT (Bunyan i sar, 2008).

Opisuju se dva osnovna tipa Retovog sindroma: klasični i atipični (*variant* u anglosaksonskoj literaturi) (Neul i sar, 2010). Glavna karakteristika kliničke slike klasičnog RTT je pojava znakova i simptoma bolesti nakon perioda normalnog inicijalnog psihomotornog i telesnog razvoja. Najraniji znaci bolesti mogu biti hipotonija i smanjena zainteresovanost za okolinu što kod nekih bolesnika može biti vidljivo već u prvim mesecima života. U većini slučajeva, međutim, ovi klinički znaci su odsutni ili neprepoznati, a prvu sumnju na Retov sindrom pobuđuje usporen rast obima glave što počinje da se manifestuje u uzrastu od 3-4 meseca. Evolucija neurorazvojne regresije kod klasičnog oblika RTT odvija se prolaskom kroz četiri dobro opisana klinička stadijuma (Neul i sar, 2010). Epilepsija se javlja kod većine obolelih (Steffenburg i sar, 2001; Jian i sar, 2007; Dolce i sar, 2013).

Pored navedenih elemenata kliničke slike, tokom evolucije RTT dolazi do pojave brojnih drugih manifestacija od različitih organskih sistema kao što su na primer gastrointestinalne smetnje (konstipacija, gastroezofagealni refluks), koštani poremećaji (skolioza, osteopenija, patološke frakture), poremećaji disanja, autonomna disfunkcija, usporen rast, deficit vitamina D i drugo (Smeets i sar, 2012).

Važeći međunarodni konsenzus podrazumeva da se dijagnoza RTT postavlja na osnovu kliničkih kriterijuma (Neul i sar, 2010). Nalaz molekularno-genetičkog testiranja nije neophodan uslov za potvrdu dijagnoze RTT. Kod 3-20% devojčica, kod kojih je na osnovu kliničkih kriterijuma dijagnostikovano RTT, nije potvrđeno postojanje mutacije u MECP2 genu (Neul i sar, 2008).

S obzirom da još uvek ne postoji kauzalna terapija, kod bolesnika sa Retovim sindromom se primenjuju simptomatske i pomoćne terapijske mere, fizikalna terapija, antiepileptička terapija (u slučaju prisustva epilepsije) i drugo. Zbog složenosti kliničke slike, pristup Retovom sindromu u referentnim centrima je uvek baziran na principu multidisciplinarnosti.

## I.2. Istorijat

Retki su primeri u istoriji savremene medicine da jedna bolest za svega nekoliko decenija, od 1966. godine kada je prvi put opisana, postane etablirana kao model genetski uslovljenog neurorazvojnog poremećaja. Upravo se to dogodilo sa Retovim sindromom i istorijat otkrića vezanih za ovu bolest može dobro ilustrirati koliko je napredak medicine u drugoj polovini XX veka bio brz ali istovremeno i trnovit.

Pretpostavlja se da je RTT u ljudskoj populaciji prisutan veoma dugo i najverovatnije je da je njegova distribucija oduvek bila panetnička. Između 1960. i 1980. godine, švedski neuropedijatar Hagberg je u svojoj praksi susreo više mentalno retardiranih devojčica sa mikrocefalijom i neobičnim stereotipijama ruku za koje nije pronašao jasan ekvivalent u dostupnoj medicinskoj literaturi. Kako sam navodi, Hagberg je njihovo stanje smatrao veoma zagonetnim. Prikupljao je medicinsku dokumentaciju tokom dvadeset godina i čak uveo provizorno ime za oboljenje "Vesslanova bolest" (Vesslan je bilo prezime jedne od porodica s obolelim detetom). Sledeći korak ka identifikovanju kliničkog entiteta koji će nam danas biti poznat kao Retov sindrom, dogodio se na sastanku Evropske federacije društava dečjih neurologa (European Federation of Child Neurology Societies) koji je održan u Junu 1981. u Mančesteru (Velika Britanija) i kojim je predsedavao dr Neil Gordon. Na tom skupu je Hagberg predstavio seriju od 16 bolesnica sa zajedničkim kliničkim karakteristikama. Usledila je diskusija između desetak iskusnih pedijatrijskih neurologa. Većina učesnika u raspravi bila je mišljenja da ova grupa devojčica nema isto, "nepoznato" oboljenje, već su smatrali da se radi o grupi klinički sličnih pacijenata sa heterogenom etiologijom poremećaja. Šezdesete i sedamdesete godine XX veka bile su period tokom kojeg je opisan veliki broj do tada novih i retkih oboljenja naročito u oblasti neurodegenerativnih poremećaja, ali u slučaju Hagbergove serije vladala je inicijalno skepsa. Ipak, pobuđena je ideja da bi mogao postojati "neprepoznat" oblik mentalne retardacije u devojčica i kliničari iz Švedske, Francuske i Portugala prionuli su na posao prikupljanja podataka u svojim sredinama o postojanju eventualnih slučajeva još uvek nedefinisane neurorazvojne bolesti.

Početak 80-tih godina, dok je dr Hagberg pripremao pismeno saopštenje o ovim bolesnicama za časopis *Annals of Neurology*, primio je važan poziv od Jean Aicardija iz Pariza. Doktor Aicardi, danas proslavljeno ime u neurologiji, i njegova saradnica dr Gutierrez

su, pregledajući medicinsku literaturu o uzrocima hiperamonijemije u dece, naišli u jednom neurološkom udžbeniku na sliku devojčice koja je fotografisana u trenutku dok čini neobični pokret rukom (*hand-wringing*). U prpratnom tekstu uz fotografiju je navedeno da je seriju od 31 devojčice sa mikrocefalijom, stereotipijama ruku i hiperamonijemijom još 1966. godine objavio bečki pedijatar dr Andreas Rett (slika I.1.).



*Slika I.1. Doktor Andreas Rett (1924-1997.)*

Doktor Hagberg je uspeo da stupi u kontakt sa dr Rettom i od njega je saznao da je hiperamonijemija koja je objavljena kao laboratorijska karakteristika bolesti, zapravo bila posledica tehničke greške. Kada je odstranjena hiperamonijemija, Hagbergova i Retova grupa pacijenata bile su po svojim karakteristikama praktično identične. Već u aprilu 1982., na inicijativu dr Retta organizovano je neuropedijatrijsko savetovanje u Beču kojim započinje niz sastanaka o novootkrivenoj bolesti koja dobija ime čoveka koji je opisao prvu grupu pacijentkinja 1966. godine. Međunarodne konferencije o Retovom sindromu tokom druge polovine osamdesetih godina omogućile su da se prepozna panetnički karakter ove bolesti.

Tako se saznaje i da je bolest istih karakteristika opisana nezavisno u Japanu još 1978. od strane Ishikawe. Serija od 35 bolesnica sa RTT koju u časopisu *Annals of neurology* objavljuju Hagberg i saradnici 1983. godine otvara vrata ekspanziji istraživanja RTT. Rezultat je prvi konsenzus o kriterijumima za dijagnozu Retovog sindroma (Hagberg i sar, 1985). U našoj sredini, prvog pacijenta sa Retovim sindromom dijagnostikuje a potom na III Jugoslovenskom simpozijumu psihijatrije i neurologije razvojnog doba 1987. prezentira prof. dr Dušan Vranješević. Autor prikaza prve serije od devet bolesnica i prvog preglednog rada o Retovom sindromu u Jugoslaviji je prof. dr Milena Đurić.

Tokom devedesetih godina dolazi do daljeg povećanja broja istraživanja koji se bave kliničkim karakteristikama, epidemiologijom ali i mogućim uzrocima RTT. Sledeći veliki prodor se događa 1999. godina kada grupa naučnika Baylor univerziteta u Hjustonu (Teksas, SAD) otkriva da mutacije u MECP2 genu dovode do pojave Retovog sindroma (Amir i sar, 2001). Otkriće MECP2 gen pripisuje se Ruthie Amir, u to vreme mlađem istraživaču u hjustonskoj laboratoriji, i njenoj mentorki Hudi Zoghbi, profesoru pedijatrije i humane genetike. Međunarodno udruženje za Retov sindrom (International Rett Syndrome Association) je osnovano 1984. godine i okuplja roditelje i stručnjake (kliničare i istraživače). Rett udruženje Srbije je osnovano 1995. godine.

Od otkrića MECP2 gena, u medicinskoj literaturi stalno raste broj izveštaja o istraživanjima svih aspekata Retovog sindroma. Studije RTT su danas prevashodno usmerene ka potpunijem razumevanju genetskih i epigenetskih mehanizama patogeneze i razvoju inovativnih strategija za lečenje bolesti. Poslednja revizija dijagnostičkih kriterijuma za RTT doneta je 2010. godine i trenutno je upotrebi (Neul i sar, 2010).

### I.3. Epidemiološke odlike Retovog sindroma

Retov sindrom predstavlja drugi po učestalosti među naslednim uzrocima mentalne retardacije u devojčica ali, ipak, epidemiološke studije ovog oboljenja su i danas relativno malobrojne. Tek sa otkrićem da su mutacije u MECP2 genu odgovorne za 70-97% slučajeva bolesti (Neul i sar, 2008), dolazi do porasta broja epidemioloških istraživanja, sa prevashodnom tendencijom da se opiše profil mutacija u različitim populacijama i prouči genotipsko-fenotipska korelacija (Bienvenu i sar, 2006; Halbach i sar, 2012).

Iako je opisan još 1966. godine, prvi stručni članci o Retovom sindromu na engleskom jeziku se pojavljuju znatno kasnije (Hagberg i sar, 1983). O epidemiologiji RTT podatke najpre saopštava Hagbergova grupa (1985). Prema njihovim podacima, prevalencija RTT u jugozapadnoj Švedskoj je iznosila 6,5 na 100000 devojčica uzrasta 6-17 godina, što je dva puta veća učestalost od one zabeležene za fenilketonuriju u istoj populaciji. Ubrzo nakon saopštenja švedske grupe, pojavljuje se epidemiološka studija škotskih istraživača koji opisuju karakteristike 19 pacijentkinja sa RTT (Kerr i sar, 1986). Incidencija u Škotskoj je procenjena na 1:15000 ženske živorođene dece, a srednje vreme početka regresije na 12 meseci. Studije koje su usledile potvrdile su pretpostavku da RTT ima panetnički karakter (tabela I.1).

*Tabela I.1. Prevalencija RTT u različitim zemljama (dev. – devojčica, g. - godina)*

Zemlja/oblast	Prevalencija	Zemlja oblast	Prevalencija
Švedska <sup>1</sup>	1,08:10000 dev.	S. Dakota, SAD <sup>6</sup>	0,5:10000 dev. do 18 g.
Škotska <sup>2</sup>	0,8: 10000 dev. do 15 g.	Estonija <sup>7</sup>	0,67:10000 dev.
Australija <sup>3</sup>	0,67:10000 žena	Švajcarska <sup>8</sup>	0,41:10000 dev.
Tama, Japan <sup>4</sup>	0,50:10000 dev. 6 -17 g.	Norveška <sup>9</sup>	2,23:10000 dev.
Fukui, Japan <sup>5</sup>	0,22:10000 dev. 6 -14 g.	Australija <sup>10</sup>	0,88:10000 žena

(<sup>1</sup>Hagberg i sar, 1997; <sup>2</sup>Kerr i sar, 1986; <sup>3</sup>Leonard i sar, 1997; <sup>4</sup>Suzuki i sar, 1989, <sup>5</sup>Terai i sar, 1995; <sup>6</sup>Burd i sar, 1991; <sup>7</sup>Talvik i sar, 1995; <sup>8</sup>Boltshauser i sar, 1987; <sup>9</sup>Skjeldal i sar, 1997; <sup>10</sup>Laurvick i sar, 2006)

Prevalencija u Teksasu je u velikoj studiji procenjena na 0,438:10000 devojčica od 2 do 18 godina života (Kozinetz i sar, 1993). Preživljavanje do 20. godine života je prema

podacima iz tekstaškog registra za Retov sindrom iznosilo 94%. Važno je imati u vidu da je tekstaška studija sprovedena pre nego što je otkriven gen MECP2 u kome se javljaju mutacije odgovorne za nastanak RTT. Autori su naveli da je, po njihovoj proceni, znanje pedijatarata o RTT u vreme sprovođenja studije (između 1988. i 1993.) bilo veoma ograničeno. Ipak, epidemiološko-klinički podaci koje je dala ova grupa istraživača u najvećoj meri odgovaraju kasnijim istraživanjima baziranim, između ostalog, i na rezultatima molekularnog testiranja. Ovo ukazuje da je klinička dijagnoza RTT u najmanju ruku ravnopravna sa molekularnom, te da i dalje ostaje zlatni standard u dijagnostici ovog neurorazvojnog poremećaja (Neul, 2010). Prevalencija RTT u Teksasu je procenjena na 1:22800 osoba ženskog pola sa većom zastupljenošću među osobama bele rase u odnosu na crnu (1:22711 u odnosu na 1:34369). Unutar bele rase nije bilo razlike u prevalenciji RTT prema etničkoj pripadnosti. Prevalencija u Teksasu bila je veoma slična onoj opisanoj u zapadnoj Škotskoj i Švajcarskoj, a manje nego u Švedskoj i Severnoj Dakoti (Kerr i sar, 1986; Boltshauser i sar, 1987; Burd i sar, 1991).

Australijska grupa istraživača Retovog sindroma, osnovala je 1993. godine „Australijsku bazu podataka za Retov sindrom“ (*Australian Rett Syndrome Database – ARSD*) koja od tada integriše kliničke podatke sa nalazima molekularno-genetičkog testiranja (Leonard i sar, 1996). Podaci u registru potiču iz brojnih izvora, uključujući i Australijsko udruženje za Retov sindrom (Rett Syndrome Association of Australia). Rezultati dvodecenijskog australijskog registra ukazuju da se tokom trajanja registra ubrzalo vreme postavljanja dijagnoze, čemu je doprinelo povećanje znanja o samoj bolesti ali i dostupnost genetičke dijagnostike (Laurvick i sar, 2006; Fehr i sar, 2011).

U australijskoj epidemiološkoj studiji RTT (Laurvick i sar, 2006) koja je obuhvatila 276 bolesnika, srednji uzrast u vreme postavljanja dijagnoze je bio 5,3 godine. Među tim pacijentima, 73% je imalo genetsku potvrdu sa MECP2 mutacijom (T158M i R168X su bile najčešće sa po 11,5% svaka, a potom su išle R294X, R270X, R355X, R306C i R133C). Klasičnog RTT je među ovim pacijentima bilo 67%. Kumulativna incidencija RTT do 12. godine je iznosila 1,09 na 10000 devojčica rođenih od 1980. do 1999. godine. Prevalencija RTT u 2004. godini je iznosila 0,65 na 10000 osoba ženskog pola. Prevalencija među devojčicama uzrasta od 5 do 18 godina je iznosila 0,88 na 10000 a kod starijih od 18 godina je iznosila 0,53 na 10000 osoba ženskog pola. Najčešći uzrok smrti u ovoj grupi je bila pneumonija (10/25), a potom slede respiratorna insuficijencija i asfiksija/aspiracija.

Preživljavanje do desete godine je iznosilo 98%, a do 25. godine je iznosilo 77,8% (bolje preživljavanje je registrovano kod devojčica sa dokazanom MeCP2 mutacijom). U poređenju sa prethodnom studijom na bazi istog registra, istraživači su zapazili povećanje prevalencije RTT u grupi devojčica od 5 do 18 godina. Ovu pojavu su objasnili postojanjem boljih dijagnostičkih uslova, ali i manjom ranom smrtnošću devojčica sa RTT.

U velikoj francuskoj studiji obuhvaćeni su svi pacijenti sa RTT i dokazanom mutacijom u MECP2 genu (Bienvenu i sar, 2006). Ovi istraživači su pokazali da je 121 različita mutacija u MECP2 genu bila prisutna kod 424 pacijenta. Veliki genski rearanžmani čine 5,9% svih mutacija u MeCP2 genu. U istoj studiji se incidencija kreće od 0,431:10000 (1990) do 0,707:10000 (1997). Prevalencija RTT u Francuskoj je procenjena na 0,578:10000 devojčica uzrasta 4-15 godina.

Studija sprovedena u Hongkongu pokazala je prevalenciju od 0,57:10000 osoba ženskog pola mlađih od 35 godina (Wong i sar, 2007). Preživljavanje do 10. godine života iznosilo je 100%, a do 25 godine 87,5%. Tri mutacije (R106W, R255X i R306C) su bile najčešće opisane patološke promene u MECP2 genu kod pacijentkinja kineske nacionalnosti iz Hong Konga.

Manji broj studija je ukazao na moguća endemska područja visoke incidencije Retovog sindroma. Tako je istraživanje u tri norveška okruga (Rogaland, Ostfold i Nordland) pokazalo zajedničku prevalenciju od 2,17 na 10000 devojčica uzrasta od 3 do 19 godina (Skjeldal i sar, 1997). Dobijena incidencija je viša nego što je opisano u izveštajima iz drugih geografskih regiona u svetu. Analizom norveškog uzorka ustanovljeno je da visoka incidencija potiče prevashodno od klastera bolesnika opserviranog u Rogaland regionu gde je prevalencija iznosila 3,77 na 10000 devojčica (u druga dva okruga prevalencija je bila 0,77-1,05:10000). Predloženi mehanizam ove neravnomernosti u distribuciji bio je genetski inbriding. Naime, rad norveške grupe se pojavio pre otkrića gena za Retov sindrom i objašnjenja načina nasleđivanja, tako da ponuđeno objašnjenje ove pojave danas zahteva reviziju.

Drugi interesantan opis grupisanja pacijenata sa RTT na malom geografskom prostoru dali su italijanski istraživači (Zappella i sar, 1987). Opisano je pet slučajeva RTT u koji su otkriveni u maloj ruralnoj populaciji oko grada Krema u Toskani (severna Italija). Unutar ove populacije, bilo je ukupno 2269 devojčica uzrasta od 4 do 14 godina. Porodična anamneza za

neurorazvojne poremećaje bila je negativna u porodicama obolelih i smatralo se da devojčice nisu u srodstvu. Kasnijom analizom porodičnih stabala utvrđeno je da su opisane devojčice iz Toskane bile deo istog porodičnog stabla koje je sezalo u 17. vek (Pini i sar, 1996). Klinička varijabilnost unutar ove male grupe bolesnica je bila izražena s obzirom da je jedna od devojčica imala poseban fenotip sa očuvanim govorom, dok su druge imale različit stepen težine klasičnog RTT.

Dužina preživljavanja devojčica sa RTT je predmet malog broja studija. Prve podatke o mortalitetu dali su Berg i Hagberg na osnovu podataka iz grupe praćene od 1971. do 1999. godine (Berg i sar, 2001). Oni su pokazali mortalitet od 18% u grupi osoba sa RTT uzrasta od 5 do 60 godina sa srednjim uzrastom u vreme smrti od 24 godine.

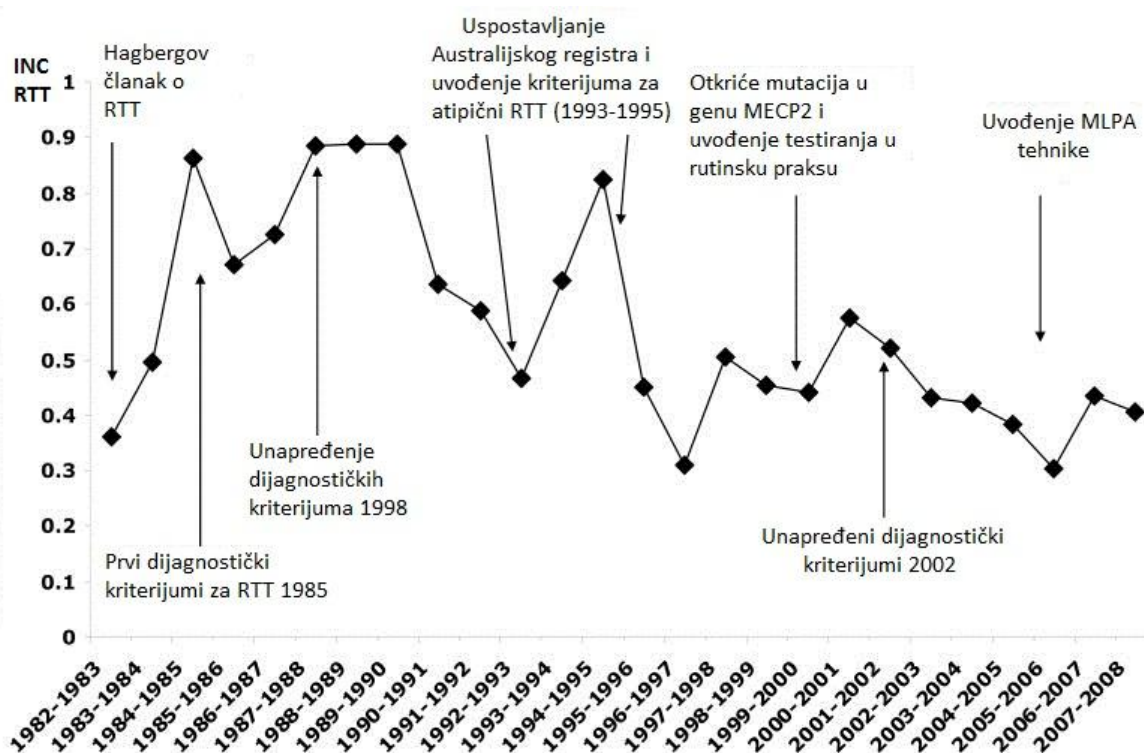
Najdetaljniji opis strukture mortaliteta u populaciji obolelih od RTT sindroma dala je austrijsko-australijska studija (Freilinger i sar, 2010). Od originalne grupe pacijentkinja dr Andreasa Rett čijoj su dokumentaciji Freilinger i saradnici imali pristup (22 bolesnice), žive su bile tri žene starosti od 48 do 49 godina. S druge strane, u Australiji je smrtni ishod registrovan kod 40/332 pacijentkinje u uzrastu između 22 meseca i 33 godine, tokom 33-godišnjeg praćenja. Medijana uzrasta smrtnog ishoda iznosila je 16 godina i 9 meseci. Među umrlim pacijentkinjama, 80% nikada nisu ostvarile sposobnost samostalnog hodanja. Najčešći uzroci smrti su bili: aspiracija kod 27,5% pacijentkinja, respiratorne infekcije kod 25%, respiratorna insuficijencija kod 7,5% a teški konvulzivni napadi kod 7,5%. Kao uzrok smrti u pojedinačnim slučajevima opisani su hemoragijski cerebrovaskularni insult, kardiogeni šok, poremećaj hranjenja itd. Preživljavanje do uzrasta od 20 godina je iznosilo 78,3%, a do 25 godina nešto više od 70%. Do 32 godine preživljavanje je opalo na 64,9%.

Kerr i saradnici su 1997. saopštili godišnju stopu smrtnosti od 1,2% kod osoba sa RTT u Velikoj Britaniji. Prema podacima Međunarodnog udruženja za Rettov sindrom nagla smrt je registrovana kod 22% bolesnika sa RTT umrlih pre navršene 23 godine (u opštoj populaciji istog uzrasta ovaj broj je nešto veći od 2%) (Kerr i sar, 2001).

Od australijske grupe istraživača RTT došla je studija koja se bavila trendovima u dijagnostici ove bolesti i njihovom uticaju na epidemiološku sliku bolesti (Fehr i sar, 2011). Studija je pokazala da je u Australiji od 1976. do 2006. rođeno ukupno 349 devojčica sa RTT (dijagnostikovane između 1982. i 2006.). Srednji uzrast u vreme postavljanja dijagnoze je bio 5,5 godina, ali je za devojčice rođene pre 1999. godine bolest dijagnostikovana u proseku sa 6



godina, a za one rođene kasnije dijagnoza je postavljena u uzrastu od 3,3 godine, što je statistički visoko značajna razlika. Pik incidencije RTT je u Australiji zapažen za period od 1992. do 1999. godine kada se rađalo 1,1-1,12 devojčica sa RTT na 10000 živorođene dece ženskog pola. Ako se posmatraju odvojeno incidencije klasičnog i atipičnog RTT, primećuje se da incidencija klasičnog RTT opada tokom devedesetih godina prošlog veka, uz istovremeni porast incidencije atipičnog RTT. Izuzetno je informativan grafički prikaz stope dijagnostikovanja RTT u Australiji u odnosu na važne napretke u dijagnostičkom pristupu ovoj bolesti (Slika I.2).



Slika I.2. Uticaj ključnih događaja u istorijatu RTT na incidenciju dijagnostikovanja RTT u Australiji (Fehr i sar, 2011)

Većina studija navodi da je incidencija RTT približna njegovoj prevalenciji što se može objasniti relativno niskom stopom smrtnosti kod ove bolesti (Laurvick i sar, 2006, Bienvenu i sar, 2006). Takođe, tendencija porasta incidencije od devedesetih godina prošlog veka i istovremeni trend postavljanja dijagnoze u sve ranijem uzrastu, ukazuje da se među kliničarima uvećava znanje o Retovom sindromu. Molekularnoj epidemiologiji RTT i genotipsko-fenotipskoj korelaciji posvećeno je posebno poglavlje ovog rada.

## I.4. Genetika i patogeneza Retovog sindroma

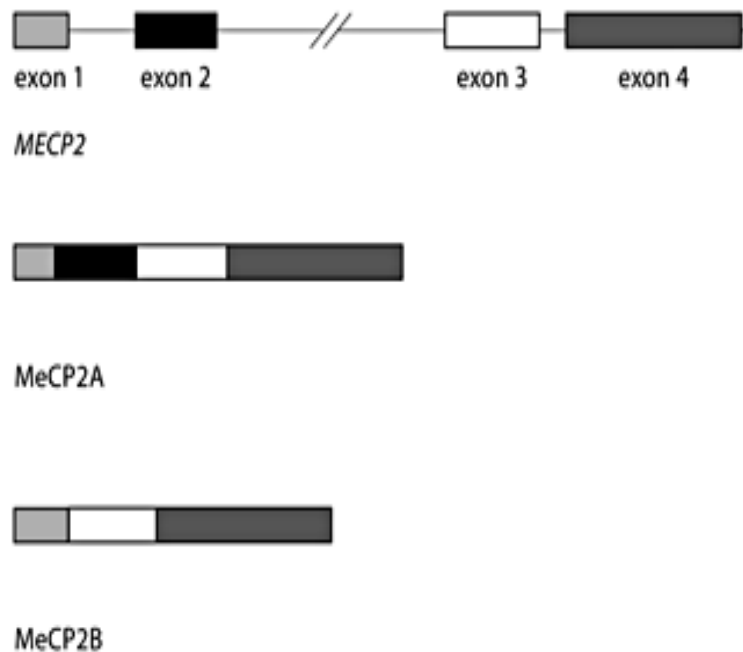
Oko 80% svih slučajeva Retovog sindroma je uzrokovano mutacijom u MECP2 genu koji kodira metil-CpG-vezujući protein 2 (methyl-CpG-binding protein 2, MeCP2) (Amir, 1999; Matijević i sar, 2009.). Podaci većih studija ukazuju da je kod čak 95-97% obolelih od klasičnog RTT moguće dokazati patološku promenu u MECP2 genu, dok je kod atipičnih oblika prevalencija mutacija u ovom genu znatno manja (Fukuda i sar, 2005; Bienvenu i sar, 2006; Neul i sar, 2008).

### I.4.1. Struktura i funkcija MeCP2 proteina i MECP2 gena

Metil-CpG-vezujući protein 2 pripada velikoj porodici proteina koji se vezuju za DNK na 5-metil-citozinskim reziduama unutar CpG dinukleotida (*methyl binding proteins* - MBP). Dinukleotidi CpG su veoma rasprostranjeni u genomu. Protein MeCP2 je prvi otkriven u celoj familiji MBP proteina (Lewis i sar, 1992; Meehan i sar, 1992). Interesovanje naučne javnosti za MECP2 gen i njegov proteinski produkt MeCP2 je naglo poraslo 1999. godine kada je američka grupa naučnika dokazala da su promene u ovom genu odgovorne za većinu slučajeva Retovog sindroma (Amir i sar, 1999). Glavna uloga proteina MeCP2 je da reguliše gensku transkripciju i on to čini vezujući se za metilisanu DNK usled čega dolazi do promena u hromatinu i promenjene transkripcije gena (Georgel i sar, 2003, Adkins i sar, 2010).

Ustanovljeno je prisustvo MeCP2 u brojnim tkivima organizma, što ukazuje da tradicionalno definisanje RTT kao isključivo neurorazvojnog poremećaja može u budućnosti zahtevati reviziju u pravcu posmatranja RTT kao multisistemske bolesti (Matijević i sar, 2009). Klinički dokazi o RTT-specifičnoj osteoporozi, kardiološkim poremećajima i RTT-specifičnoj hroničnoj plućnoj bolesti, govore u prilog potrebi za ovakvom revizijom (Budden i sar, 2003; Acampa i sar, 2006; De Felice i sar, 2010).

Gen MECP 2 je lociran na hromozomu X, u regionu Xq28, između lokusa L1CAM i RCP/GCP. Gen MECP2 ima 4 egzona (slika I.3). Protein MeCP2 je jedarni protein koji se sastoji od 486 aminokiselina i široko je rasprostranjen u organizmu. Glavna izoforma MeCP2 proteina (MeCP2A) je kodirana od strane sva četiri egzona u MECP2 genu, a postoji i izoforma MeCP2B koju kodiraju egzoni 1, 3 i 4 (Amir i sar, 1999; Mnatzakanian i sar, 2004).

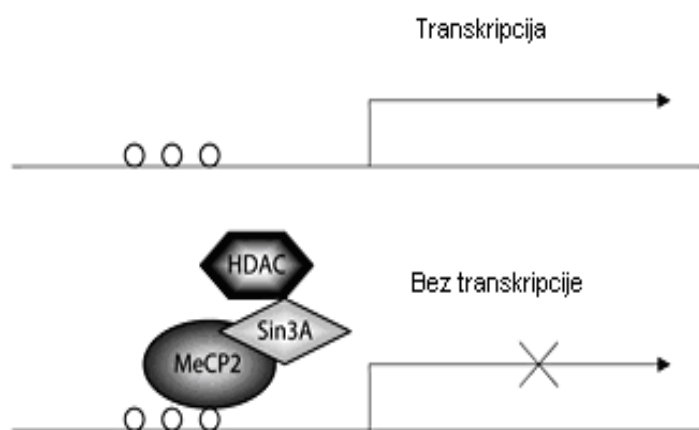


*Slika I.3. Bazična struktura MECP2 gena. Gen MECP2 sastoji se od 4 egzona i daje 2 izoforme (splice varijante): MeCP2A u čijoj sintezi učestvuju sva 4 egzona i MeCP2B u čiju sintezu nije uključen egzon 2 (Matijević i sar, 2009).*

Protein MeCP2 sadrži četiri funkcionalna domena: 1) metil-CpG-vezujući domen (methyl binding domain - MBD, sastavljen iz 85 aminokiselina) koji se vezuje za 5-metil citozin sa visokim afinitetom, 2) transkripcioni represioni domen (transcription repression domain - TRD, 104 aminokiseline) koji interreaguje sa histonskim deacetilazama i transkripcionim korepresorom SIN3A, 3) nuklearni lokalizacioni signal koji je odgovoran za transport MeCP2 unutar jedra (TRD-NLS) i 4) C-terminalni segment koji ubrzava vezivanje za nukleozomsko jezgro (Bienvenu i sar, 2006; Matijević i sar, 2009).

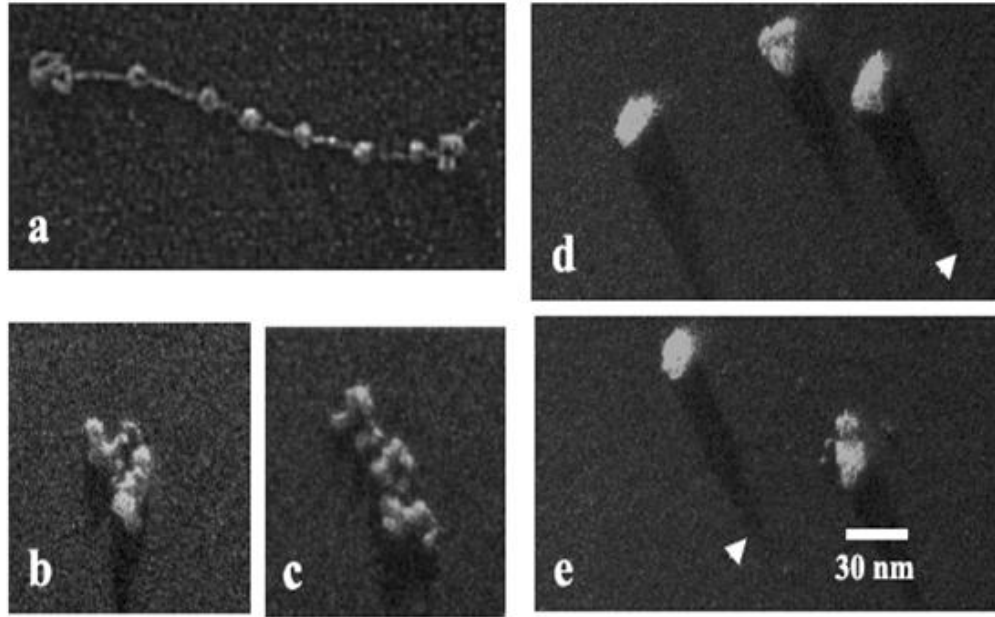
Protein MeCP se vezuje za metilisanu DNK na mestima CpG dinukleotida i tada uglavnom dovodi do inhibicije transkripcije (slika I.4), ali se može vezati i za nemetilisanu DNK kada potencira transkripciju (Adkins i sar, 2010). Transkripcioni korepresor i MeCP2

protein potom formiraju kompleks koji sprovodi deacetilaciju histona H3 i H4 što rezultira pojačanom kompaktnošću histona (slika I.5). Na ovaj način, sama DNK postaje nedostupna za transkripcioni proces (Nan i sar, 1998). Protein MeCP2 je u stanju i da direktno vrši represiju transkripcije, nezavisno od histonskih deacetilaza (Yu i sar, 2000). Represija putem DNK metilacije posredovana MeCP2 proteinom važna je za proces inaktivacije X hromozoma i genomski imprinting.



*Slika I.4. Jednostavna shema funkcije MeCP2 proteina.*

*MeCP2 deluje kao represor transkripcije tako što se vezuje se za metilisane CpG domene i preko Sin3A korepresora aktivira histonske deacetilaze (HDAC). Ovaj proces dovodi do deacetilacije histona H3 i H4 i posledične kompaktizacije hromatina, a time DNK postaje nedostupna transkripcionom sistemu (Matijević i sar, 2009).*



Slika 1.5. Kompaktizacija hromatina pod uticajem MeCP2 proteina (Adkins i sar, 2010)

S obzirom da je MeCP2 prisutan u brojnim tkivima, isprva se smatralo da bi mogao delovati kao globalni transkripcioni supresor. Međutim, većina studija ukazuje da je njegovo dejstvo lokalizovano prvenstveno u tkivima nervnog sistema i da je veoma precizno regulisano (Bienvenu i sar, 2006, Matijević i sar, 2009). Pored neurona, MeCP2 veoma aktivan i u ne-neuronskim ćelijama nervnog sistema, prvenstveno u astrocitima (Maezawa i sar, 2009).

Ključna fiziološka uloga MeCP2 proteina je u procesu maturacije moždanih struktura; na histološkom nivou je dokazano da utiče na razvoj dendritičkih produžetaka i dostizanju normalne veličine neuronskih tela (Smrt i sar, 2007). Otuda se, u nedostatku MeCP2, kod Retovog sindroma susreću mikrocefalija ali i čitav niz kliničkih znakova poremećenog sazrevanja CNS-a. Neurobiološke studije su pokazale da je kod MeCP2 deficijentnih (mutantnih) miševa dolazilo do formiranja nezrelih neurona; sazrevanje je bilo onemogućeno s obzirom da je veliki broj gena uključenih u sinaptogenezu pokazivao poremećenu ekspresivnost (Chen i sar, 2001; Smrt i sar, 2007, Singleton i sar, 2011.). Pretpostavlja se da se radi o tzv. “target” genima za delovanje MeCP2 proteina.

#### I.4.2. Mutacija u MECP2 i drugim genima koje izazivaju Retov sindrom

Gotovo sve mutacije (više od 99%) u MECP2 genu nastaju *de novo* (Neul i sar, 2008). Izuzetak predstavljaju retki slučajevi kada su mutacije nasleđene od majki koje su zdrave ili imaju sliku blažeg kognitivnog deficita. Neki zdravi nosioci mutacije imaju gonadalni mozaicizam ili povoljan obrazac inaktivacije X hromozoma, ali bolest mogu preneti na potomstvo. Oko dve trećine svih mutacija u MECP2 genu su izazvane promenom citozina u timin na nekom od 8 CpG dinukleotida (R106, R133, T158, R168, R255, R270, R294 and R306) i locirane su na trećem ili četvrtom egzonu (Neul i sar, 2008, Matijević i sar, 2009). Najčešće mutacija u većini populacija su R168X i T158M (Philippe i sar, 2006; Li i sar, 2009, Halbach i sar, 2011). Iako se mutacije mogu naći bilo gde u MECP2 genu, ipak se zapaža područje grupisanja missense mutacija na 5 kraju TRD domena; sve ove mutacije uključuju evolutivno konzervisani funkcionalni domen. Nonsense, frameshift i splicing mutacije dešavaju se uglavnom distalno od MBD i rezultiraju u preranom završetku transkripcije i dobijanju skraćenog proteina. Veće multinukleotidne delecije dešavaju se na C-terminalnom kraju (Bienvenu i sar, 2006, Matijević i sar, 2009). Iako delecije u većini slučajeva pogađaju isti region, one između sebe uglavnom nisu identične. Pretpostavlja se da “skraćeni” (truncated) proteinski produkt mutiranog gena ipak može da veže metilisanu DNK ali da ne ostvaruje interakciju sa korepresorom SIN3A (Adkins i sar, 2010).

Bile su nam dostupne tri studije genotipa pacijenata sa Retovim sindromom su u populacijama slovenskog porekla (Matijević i sar, 2006, Zahorakova i sar, 2007; Djarmati i sar, 2007). Studija Djarmati i sar. izvedena je na prvoj grupi testiranih bolesnica sa RTT u Srbiji, a obavljena je na Biološkom fakultetu u Beogradu. U svim ispitanim populacijama je utvrdimo da su najčešće mutacije u MECP2 genu T158M, R168X, R270X i R133C, kao i da su relativno česte C-terminalne delecije. Dobijeni profil mutacija nije značajno drugačiji od nalaza dobijenih u populacijama iz drugih delova sveta. Genetsko-fenotipska korelacija detaljno je razmatrana u posebnom poglavlju ovog rada.

S obzirom da kod izvesnog broja bolesnika sa RTT nije utvrđeno prisustvo MECP2 mutacija, poslednjih godina se intenzivno ispituju i drugi genski lokusi kao mogući kandidati. Dve grupe autora su inicijalno opisale mutacije u genu za ciklin-zavisani kinazi sličan protein 5 (CDKL5) koji je lociran u Xp22 regionu kod bolesnika sa atipičnim RTT (Tao i sar, 2004; Weaning i sar, 2004). Kasnije studije su ukazale da CDKL5 i MeCP2 protein učestvuju u

istom kontrolnom mehanizmu transkripcije. Bertani i saradnici su 2006. dokazali da je CDKL5 odgovoran za fosforilaciju MeCP2 proteina te da njegova disfunkcija remeti regulacione procese čiji je MeCP2 stožer.

Kod nekoliko bolesnika sa retkom, kongenitalnom varijantom RTT dokazane su *de novo* mutacije u *forkhead box G1* (FOXG1) genu. Gen je lociran dugom kraku hromozoma 14, u regionu čije se delecije od ranije povezuju sa mentalnom retardacijom (Jacob i sar, 2009). Gen FOXG1 je, slično MECP2 genu, važan za razvoj i sazrevanje mozga. Druga sličnost sa MECP2 je u tome što ovaj gen takođe kodira transkripcioni represorski protein koji je eksprimiran prevashodno u mozgu. Istraživanja Arianija i saradnika (2008) su pokazala da su FOXG1 i MECP2 gen aktivni u istom tipu neurona u određenim razvojnim fazama mozga.

Borg i sar. su prvi opisali devojčicu sa kliničkom slikom RTT i hromozomskom translokacijom koja je uključila hromozome 1 i 7. Na hromozomu 1 se nalazi Netrin G1 gen i on je bio oštećen navedenom translokacijom. Netrin G1 je eksprimiran u moždanim ćelijama i smatra se da ima važnu ulogu u maturaciji CNS. Kasnije istraživanje Archera i saradnika (2006.) u velikoj grupi RTT bolesnika (N 115) pokazalo je nijedan bolesnik nije imao mutacije u genu za Netrin G1. Do istog rezultata je došla i francuska studija atipičnog RTT (Nectoux i sar, 2007.). Za sada se smatra da je ovaj gen odgovoran za veoma mali broj slučajeva RTT.

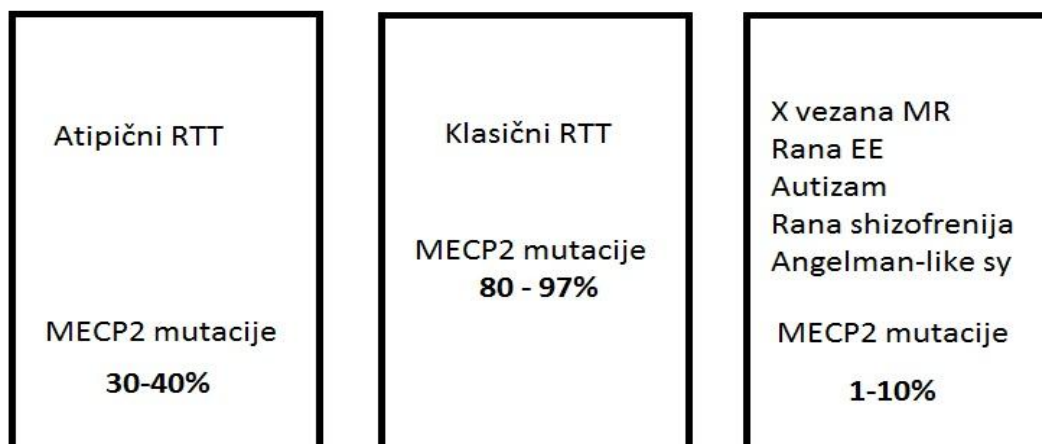
#### I.4.3. Mutacije u MECP2 genu kod drugih oboljenja i kod muškog pola

Utvrđeno je da mutacije u MECP2 genu nisu prisutne samo kod Retovog sindroma, već da se susreću kod čitavog niza drugih oboljenja (slika I.6). Tako su finski istraživači pokazali da su MECP2 mutacije bile prisutne kod 2% bolesnika u uzorku muške dece sa nespecifičnom mentalnom retardacijom, što je bilo jednako zastupljenosti sindroma fragilnog X hromozoma u ovoj populaciji (Couvert i sar, 2001; Ylisaukko-Oya i sar, 2005). Povišena učestalost varijacija u 3'UTR regionu MECP2 gena je pronađena kod osoba sa autizmom a postoji i izveštaj o slučaju rane šizofrenije u dečaka sa MECP2 mutacijom (Shibayama i sar, 2004; Cohen i sar, 2002). Takođe, pokazano je da se kod 10% pacijenata oba pola sa kliničkom slikom Angelmanovog sindroma i negativnom promenom u regionu 15q11-13, može očekivati patološka mutacija u MECP2 genu (Watson i sar, 2001).

Već je rečeno da se zastupljenost patogenih mutacija u MECP2 genu kod osoba muškog pola sa mentalnom retardacijom kreće se od 1,3 do 2% (Clayton-Smith i sar 2000,

Ylisaukko-Oya i sar, 2005). Ali, jedan broj muške dece sa mutacijama u *MECP2* genu ima tešku neonatalnu ili infantilnu encefalopatiju i umire već tokom prvih jednu do dve godine po rođenju (Villard, 2007). Ukoliko su kod dečaka prisutne promene u *MECP2* genu koje bi kod devojčica prouzrokovale blag RTT fenotip, možemo očekivati da muška deca budu mentalno retardirana sa izvesnim stepenom motornog oštećenja, ali bez ranog smrtnog ishoda. Opisani su slučajevi RTT kod dečaka koji su imali somatski mozaicizam za *MECP2* mutaciju ili Klinefelterov sindrom gde je na jednom X hromozomu bila prisutna *MECP2* mutacija (Schwartzman i sar, 1998). Postoji izvestan broj mutacija koje se javljaju samo kod dečaka sa RTT fenotipom. Na primer, A140V mutacija nije do sada opisana kod devojčica sa klasičnim RTT, ali je pronađena kod 4 obolela dečaka iz iste porodice (Orrico i sar, 2000).

Pojedini izveštaji govore da bi promene u *MECP2* genu mogle biti uključene i u kancerogenezu, naročito za karcinom dojke i prostate. Pokazano je, naime, da *MeCP2* protein može obavljati inhibiciju tumor-supresorskih gena (npr. *BRCA1* gena) (Auriol i sar, 2005; Bernard i sar, 2006)



Slika I.6. Mutacije u *MECP2* genu kod RTT i drugih poremećaja.



#### I.4.4. Efekat inaktivacije X hromozoma na MECP2 gen

Inaktivacija X hromozoma dešava se nasumično u ćelijama ženskih embriona, rezultirajući u mozaičnoj distribuciji inaktivnog/aktivnog X hromozoma u organizmu. MECP2 gen, s obzirom na svoju lokaciju, takođe podleže procesu X inaktivacije. Po jednoj od prvih studija ovog tipa u RTT koja je uključila 34 obolela, pokazano je da je X inaktivacija bila nasumična kod 91% bolesnica (Amir i sar, 2000). Ne-nasumična X inaktivacija je zapažena kod bolesnica sa blažom kliničkom slikom RTT; inaktivacija je prevashodno zahvatala X hromozom sa mutiranim MECP2 genom. Isti mehanizam je delovao i kod malobrojnih osoba ženskog pola za koje je utvrđeno da su asimptomatski nosioci mutacija u MECP2 genu. Ispostavilo se, međutim, da proučavanje X inaktivacije u limfocitima, iako poznato kao standardni metod, nije sasvim upotrebljivo kod obolelih od RTT. Postoje, naime, slučajevi kod kojih je utvrđeno da se X inaktivacija nije odvijala po istom obrascu u mozgu i ćelijama periferne krvi (Archer i sar, 2007; Matijević i sar, 2009).

#### I.4.5. Mete za delovanje MeCP2 proteina

Postoje brojni dokazi da MeCP2 protein može “utišati” određene gene. Do sada je dokazano da ovaj efekat MeCP2 ostvaruje na gene LINE-1, Leukosialin, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gen, distal-less homeobox 5 (DLX5) gen, gen za CRH (kortikotropin rilizing hormon) ali i brojne gene koji regulišu funkciju astrocita SLC38A1 i NDN gen (Bienvenu 2006, Yasui i sar, 2013).

Više istraživača je saopštilo da MeCP2 reguliše ekspresiju gena koji kodira brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Chen i sar, 2003; Martinovich i sar, 2003). Protein BDNF je ključan sa plastičnost neuralnog tkiva, učenje i memoriju. MeCP2 se selektivno vezuje za promotor III gena za BDNF, a njegovo otpuštanje je regulisano akcionim potencijalom, influsom kalcijuma i posledičnom fosforilacijom MeCP2 molekula. Nakon otpuštanja MeCP2 sa promotornog regiona, dolazi do transkripcije BDNF gena. Ovo otkriće je pokazalo da MeCP2 ima ulogu u akcionoj (activity-dependent) regulaciji transkripcije gena u neuralnom tkivu. S obzirom da su disajne abnormalnosti jedna od najvažnijih kliničkih karakteristika RTT, posebno je zanimljivo nedavno otkriće da je produkt BDNF gena izuzetno važan u regulaciji ritma respiratornog centra u moždanom stablu (Caravagna i sar, 2013). O uticaju BDNF polimorfizama na genotipsko-fenotipsku korelaciju kod RTT bolesnika pozitivnih na MECP2 mutacije biće reči u kasnijem delu teksta.

Još jedan potencijalni kandidat-gen koji bi mogao da osvetli patofiziologiju RTT je gen *DLX5*. Ovaj gen reguliše produkciju enzima koji sintetišu gama-aminobuternu kiselinu (GABA), glavni inhibitorski neurotransmiter u CNS. Istraživanje je pokazalo da je transkripcija *DLX5* dva puta veća u mozgu miševa koji nemaju aktivan MeCP2 u poređenju sa zdravim miševima. Ako je MeCP2 protein oštećen ili nedostaje u potpunosti, onda nema “utišavanja” imprintovanog alela i aktivnost je dvostruka (kao kod “null” mutantnog miša). Horike i saradnici su potvrdili da limfoblasti RTT pacijenata imaju gubitak imprintinga za *DLX5* gen, što bi moglo rezultirati u promeni aktivnosti GABA-ergičkih neurona kod obolelih od RTT. Ista grupa je opisala i novi mehanizam regulacije genske ekspresije putem aktivnosti MeCP2 kroz formiranje “tihe hromatinske petlje”. Naime, kod zdravog (wild-type) miša, MeCP2 formira petlju “tihog”, metilisanog hromatina u blizini lokacije *DLX5* i *DLX6* gena; ova petlja reguliše ekspresiju navedenih gena. Kod knockout miševa koji ne proizvode MeCP2, ovaj region hromatina je acetilisan i aktivan i *DLX5* ekspresija je pojačana (Horike i sar, 2005).

McGill et sar su identifikovali još jedan potencijalni target-gen za delovanje MeCP2 proteina. Proučavajući miševе sa skraćujućom (“truncation”) mutacijom *Mecp2*<sup>308/y</sup>, pronašli su da je ekspresija gena za kortikotropin-rilizing hormon (CRH) pojačana u paraventricularnom jedru hipotalamusa, centralim amigdaloidnim jedrima i striji terminalis. Kod divljeg tipa miša, normalni MeCP2 protein se vezuje CRH promotorni region bogat metilisanim CpG ostacima (McGill i sar, 2006).

Čvrsto je dokazano da većina bolesnika sa RTT ima patogene mutacije u *MECP2* genu (Amir i sar, 1999; Neul i sar, 2008; Philippe i sar, 2006). Skorija ispitivanja pokazuju da ukoliko RTT bolesnici nemaju promene u *MECP2* genu, mutacije mogu biti pronađene u *CDKL5*, *FOXG1* i *Netrin G1* genima. Postoje dokazi da su *CDKL5* i *MECP2* u bliskoj međusobnoj vezi, te da mutacije u genima za ove proteina dovode do bolesti putem istog patofiziološkog mehanizma. Nekoliko target-gena za delovanje *MECP2* je opisano, ali su neophodna dodatna istraživanja kako bi se šire sagledala patofiziologija RTT što bi omogućilo i razvoj specifičnog (kauzalnog) terapijskog pristupa ovom oboljenju.

## I.5. Genotipsko-fenotipska korelacija u Retovom sindromu

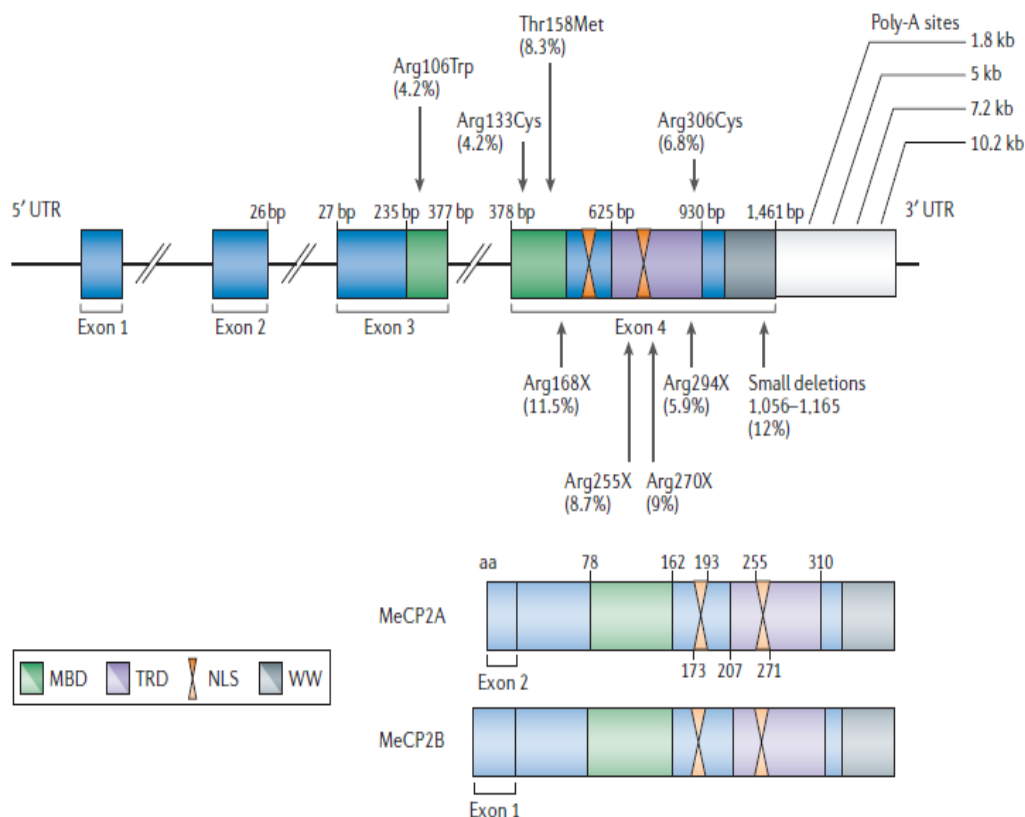
Retov sindrom ima specifičnu kliničku sliku ali postoji izražena varijabilnost u težini kliničke slike između pacijentkinja obolelih od ove bolesti. Na primer, pojedine pacijentkinje sa klasičnim RTT imaju sposobnost samostalnog hoda, dok su druge, iako sa istim oblikom bolesti, nepokretne već u ranom uzrastu (Neul i sar, 2008). Sličan varijabilitet je prisutan i za druge karakteristike RTT, kao što je vreme početka regresije i pojave stereotipnih pokreta, težina epilepsije, prisustvo zastoja u rastu i razvoju, mikrocefalije, autonomnih poremećaja i sl. Jedno od objašnjenja kako bi genetska osnova mogla da utiče na širok raspon kliničke ekspresivnosti odnosio se na mehanizme inaktivacije X hromozoma. Istraživanjima se došlo do zaključka da su varijacije u inaktivaciji X hromozoma odgovorne za manji deo varijabilnosti kliničke slike u RTT (Archer i sar, 2006). S obzirom da su mutacije u MECP2 genu uzrok nastanka RTT kod više od dve trećine obolelih (kod klasičnog RTT u preko 90% slučajeva), brojne studije su analizirale mogućnost da su razlike u mutacijama ovog gena uzrok široke kliničke varijabilnosti (Neul i sar, 2008; Matijević i sar, 2009).

Kao što je slučaj kod mnogih monogenских oboljenja, tako i kod Retovog sindroma za sada nije dokazana čvrsta genotipsko-fenotipska korelacija kada se radi o mutacijama u MECP2 genu (Neul i sar, 2008; Matijević i sar, 2009). Rezultati su oprečni: dok jedni istraživači opisuju izvestan stepen korelacije genotipa i fenotipa, studije drugih negiraju mogućnost donošenja čvrstih zaključaka. Blaže forme bolesti se predominantno susreću kod bolesnika sa missense mutacijama u odnosu na one sa kasnim "truncating" (skraćujućim) mutacijama (Monros i sar, 2001.). Velike delecije u MECP2 genu mogu rezultirati blagom ali i veoma teškom kliničkom slikom (Monros i sar, 2001.). Huppke i saradnici su 2002. pokazali da su nosioci mutacija ili delecija u tzv. "hotspot" regionu (1030 do 1207 bp) skloni blažim kliničkim oblicima.

Postoje i izveštaji o tome da ista mutacija može rezultirati u različitim kliničkim fenotipovima. Ovi radovi sugerišu da pored tipa mutacije i drugi genetski faktori utiču na težinu bolesti, kao što je već pomenuti obrazac inaktivacije X hromozoma ili polimorfizmi u drugim genima (npr. gen za BDNF) (Chen i sar, 2003). Scala i saradnici su 2003. opisali dve sestre sa identičnom MECP2 delecijom ali i veoma različitim kliničkim ispoljavanjem. Pretpostavlja se da rekurencija RTT u ovoj porodici potiče od gonadalnog mozaicizma majke.

Jedna sestra je imala blaži mentalni deficit sa visokom funkcionalnošću i očuvanim govorom, dok je kod druge bio prisutan klasičan oblik RTT. Nije jasno koji su epigenetski ili genetski faktori modifikovali kliničku ekspresiju kod ovih bolesnika sa RTT.

Ipak, najviše studija genotipsko-fenotipske korelacije u Retovom sindromu bavi se uticajem pojedinačnih mutacija u MECP2 genu na klinički ishod (Slika I.7). Do sada je opisano više od 300 mutacija u ovom genu na X hromozomu, a u gotovo svim ispitivanim populacijama (bez obzira na etničku i geografsku pripadnost) oko 70% bolesnika ima neku od osam najčešćih mutacija. Pored nabrojanih, važne su i C-terminalne delecije koje se susreću kod 10% klasičnih RTT bolesnika prema podacima australijske Datoteke mutacija za Retov sindrom (*Rettbase*; <http://mecp2.chw.edu.au/>).



Slika I.7. Model MECP2 gena i lokalizacija najčešćih mutacija (Bienvenu i sar, 2006)

Većina studija genotipsko-fenotipske korelacije tokom prvih nekoliko godina po otkriću MECP2 gena, nije mogla da ustanovi jasnu genotipsko fenotipsku korelaciju s

obzirom na relativno mali broj pacijenata sa pojedinačnim mutacijama (Cheadle i sar, 2000,; Monros i sar, 2001; Amir i sar, 2000).

Na bazi holandsko-belgijske datoteke pacijenata sa Retovim sindromom (Maastricht-Leuven Rett Syndrome database) koja obuhvata 137 bolesnika sa molekularnom potvrdom mutacije u MECP2 genu, sprovedeno je ispitivanje genotipsko-fenotipskog odnosa (Halbach i sar, 2012). Kod 80% bolesnica je bio prisutan klasični RTT, a atipični kod 20%. Kod većine pacijentkinja početak regresije je bio u uzrastu od 12 meseci, a srednji uzrast dijagnoze je bio 7,8 godina. Polovina devojčica je dijagnostikovana u uzrastu od 8 do 12 godina. Najkasniji početak regresije (13,6 meseci) su imale devojčice sa mutacijama u MBD domenu, gotovo jednak uzrast početka su imale devojčice sa mutacijama u TRD i CTS domenu (11,5 i 11,6 meseci). Nije bilo statistički značajne razlike između ovih grupa. Što se tiče pojedinačnih mutacija, najranije se javljala regresija kod devojčica sa R168X mutacijom a najkasnije sa R06C (7,3 m u odnosu na 18,3 m). Najkasnije su dijagnostikovane devojčice sa mutacijama u MBD regionu, a najranije sa C terminalnim promenama u MECP2 genu. Najkasnije su dijagnostikovane devojčice sa R306C mutacijama (bez statističke značajnosti). U holandsko-belgijskoj grupi, 8 rekurentnih mutacija i CTS mutacije su bile prisutne kod 79% bolesnica.

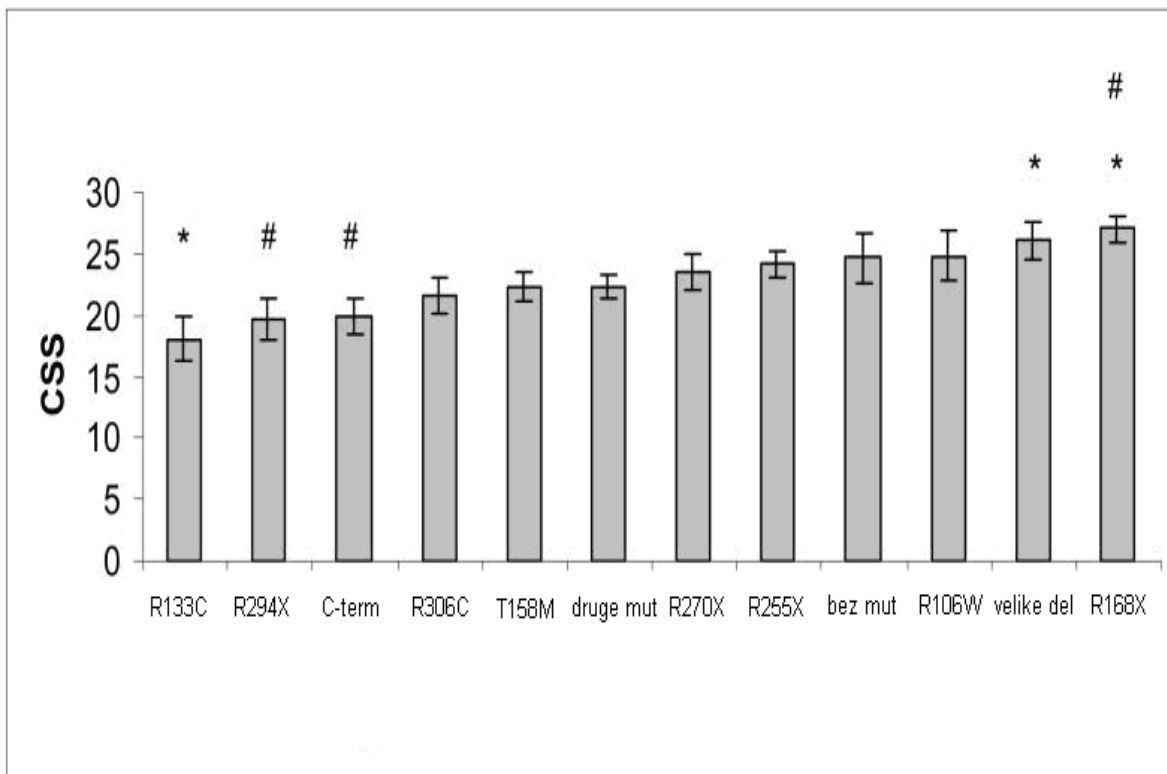
Ukupni skor težine bolesti (ISS) u navedenoj holandsko-belgijskoj studiji je bio najniži kod devojčica sa C terminalnim mutacijama, a najviši kod TRD mutacija, što je imalo statističku značajnost. Što se tiče pojedinačnih rekurentnih mutacija, najniži ISS su imale devojčice sa R133C mutacijama, a najviši sa P152R (visoka statistička značajnost). Visok ISS je bio prisutan i kod nosilaca mutacija R255X, R270X, R168X, kao i T158M. Mutacije R133C, R294X i R306C, kao i C-terminalne mutacije su bila udružene sa nižim vrednostima skora težine kliničke slike RTT. Od ranije je poznato da su mutacije u C-terminalnom segmentu MECP2 gena povezane sa blažom kliničkom slikom RTT (Huppke i sar, 2002; Colvin i sar, 2004; Smeets i sar, 2005; Neul i sar, 2008; Smeets i sar, 2009; Bebbington i sar, 2008). Prema nalazima Bebbingtona i sar, mutacije R133C i R294X su takođe bile povezane sa blažom kliničkom slikom, dok se mutacije R255X i R270X sreću češće kod pacijenata sa višim vrednostima skorova težine bolesti. Što se tiče rasta i razvoja, R270X je bila udružena sa razvojem mikrocefalije u toku prve godine kod 78% ispitanica. CTS mutacije su bile povezane sa nižom stopom mikrocefalije (27% u odnosu na 70-75% sa TRD i MBD mutacijama). Težina je bila ispod P3 kod 20% ovog uzorka, a kod 37% između P3 i P10.

Visina je bila ispod P3 kod 24% ovog uzorka, a kod 45% između P3 i P10. za visinu i težinu nije bilo jasne genotipsko fenotipske korelacije. Skolioza je bila prisutna kod 70% bolesnica iz holandsko-belgijskog uzorka (Halbach i sar, 2012) i ovde nije bilo jasne genotipsko-fenotipske korelacije. Ovaj nalaz odstupa od rezultata drugih istraživača koji su opisali povećanu prevalenciju skolioze među bolesnicama sa C-terminalnim mutacijama (Smeets i sar, 2005). Trećina devojčica u studiji Halbacha i saradnika se kretala bez pomoći, a 24% uz pomoć, dok je 44% bilo vezano za kolica. Nije bilo genotipsko-fenotipske korelacije. Druge studije ukazuju međutim da su mutacije C-terminalnog regiona bile udružene sa boljom sposobnošću kretanja. (Neul i sar, 2008; Bebbington i sar, 2010). Stereotipije ruku su bile prisutne kod 96% bolesnica i nije bilo jasne genotipsko-fenotipske korelacije. Polovina bolesnica nije mogla da koristi ruku za svrsishodne pokrete, a kod više od 40% su ti pokreti bili veoma poremećeni. Mentalna retardacija je utvrđena kod svih bolesnica, a teška retardacija kod 73%. Moć govora je bila odsutna kod 86% uzorka. Za epilepsiju takođe nije bilo jasne genotipsko-fenotipske korelacije. Autonomni problemi su bili manje izraženi kod R270X mutacije, te je studijom Halbacha i saradnika bačeno novo svetlo na ovu mutaciju koja je na osnovu dotadašnjih istraživanja smatrana indikatorom teže kliničke slike (Colvin i sar, 2004; Charman i sar, 2005; Leonard i sar, 2005; Bebbington i sar, 2008; Smeets i sar, 2009). Problemi sa disanjem su bili prisutni kod 81%, a 25% je imalo veoma izražene probleme sa krizama apneje i zacenjivanja. Kod 12% uzorka je bilo prisutno agresivno ponašanje, a kod 16% teži poremećaji sna. Nije bilo genotipsko-fenotipske korelacije. Što se tiče ranog psihomotornog razvoja, R133C je bila asocirana sa normalnim razvojem, a R168X je u 87% slučajeva bila povezana sa poremećajem ranog razvoja. Halbach i sar opisuju P152R kao mutaciju asociranu sa najtežom kliničkom slikom RTT, a postoji samo još jedna studija sa ovakvim zaključkom (Kondo i sar, 2002). Pretpostavlja se da je niska prevalencija ove mutacija razlog zašto njen značaj nije prepoznat u drugim studijama. Halbach i saradnici zaključuju da izvesna genotipsko-fenotipska korelacija kod RTT izazvanog mutacijama u MECP2 genu postoji, ali da se ne može koristiti kao prediktivni model kod ove bolesti.

Studija Psoni i saradnika (2012.) je pokazala genotipsko-fenotipsku korelaciju kod grčkih pacijenata RTT. Najpre je ukazano da su mutacije u MECP2 genu prisutne kod 70% dece sa klasičnim RTT i 20% dece sa atipičnim (variant) oblicima RTT. Najčešće mutacije u MECP2 otkrivene kod grčkih RTT pacijenata su bile R106W, R133C i T158M i C-terminalne

mutacije a potom su sledile R306C i R168X. Devojčice sa odsutnim MECP2 mutacijama su u poređenju sa onima koje su imale potvrđene mutacije imale nešto blažu kliničku sliku, manju prevalenciju epilepsije, respiratornih poremećaja, ataksije i bolje izražen rast i razvoj. Najviši skor težine bolesti imale su pacijentkinje sa R168X, R133C i R294X, a najblažu kliničku sliku prema skorovima Kerra i Pinede su imali nosioci mutacija R255X, R306C i C-terminalnih mutacija. Donekle podudarne rezultate daje studija Smeetsa i sar koji opisuju klinički sliku autizma kao dominantnu kod nosilaca R133C mutacije dok je R306C bila udružena sa sporijom progresijom bolesti (Smeets i sar, 2012). S druge strane, asocijaciju mutacije R133C sa blažom kliničkom slikom i očuvanim govorom saopštavaju italijanski i australijski istraživači (Zappela i sar, 2003; Leonard i sar, 2003).

Multicentrična studija Neula i saradnika je obuhvatila 236 bolesnika sa klasičnim RTT, a težinu kliničke slike određivala skorovanjem prema Clinical Severity Score skali specijalno razvijenoj za RTT (Neul i sar, 2008). Ova studija je pokazala da 97% bolesnika sa kriterijumima za klasičan RTT imaju mutacije u MECP2 genu. Jedna od najčešćih 8 mutacija je pronađena kod 67% ispitanica. Najčešće mutacije su bile R255X (n 32, 13,1%), T158M (n 30, 12,2%) i R168X (n 29, 11,9%). Najviši skor CSS je registrovan kod bolesnika sa R168X mutacijom (27,0), velikim delecijama (26,1), onih bez mutacije u MECP2 genu (24,7), te mutacijama R106W (24,8) i R255X (24,2). Najlakši klinički oblici, prema skorovima CSS, su bili registrovani kod pacijenata sa C-terminalnim mutacijama (19,9) i mutacijom R133C (18,1). Dobijena je statistički visoko značajna razlika za CSS između pacijenata sa različitim mutacijama (p 0,0003) (Slika I.8). Kao ilustraciju nepodudarnosti genotipsko-fenotipske korelacije između različitih studija, može se navesti i rezultat australijske grupe istraživača saopštava da je mutacija R270X bila povezana sa najtežim kliničkim fenotipom i povećanom smrtnošću, kao i da su ostale mutacije iz regiona TRD-NLS takođe nosile viši rizik za tešku formu bolesti (Colvin i sar, 2004; Jian L, 2005).



Slika I.8. Skor CSS kod bolesnika sa različitim mutacijama u MECP2 genu (Neul i sar, 2008)

Dalja analiza Neula i saradnika je pokazala da se sa visokom statističkom značajnošću ( $p < 0.004$ ) nosioci različitih *MECP2* mutacija razlikuju i po sledećim kliničkim karakteristikama: pokretljivosti, upotrebi ruke i govora. Lošije kretanje i teži poremećaj u upotrebi ruke i govora je zapažen kod R168X u odnosu na druge mutacije, dok je govor bio najbolje očuvan kod R133C mutacije, a kretanje kod C-terminalnih mutacija. Zapažena je interesantna odlika R306C mutacije; naime, kod bolesnika sa ovom promenom, kretanje je bilo bolje očuvano nego kod drugih i CSS je bio niži, ali je samo 10% imalo očuvanu sposobnost izgovaranja reči. S druge strane, mutacija R133C je takođe udružena sa blažim kliničkim fenotipom, ali i sa relativno dobro očuvanom sposobnošću govora. Ovi podaci dobro ilustruju kako se izvesni specifični klinički obrasci mogu povezati sa određenim mutacijama u *MECP2* genu.



## **I.6. Klinička slika i dijagnostički kriterijumi za Retov sindrom**

Retov sindrom karakteriše neurološka regresija koja pogađa motorne, kognitivne i komunikacione sposobnosti. Važni elementi kliničkog ispoljavanja su mikrocefalija, prekid u sticanju novih sposobnosti, odsustvo ili teška redukcija govora, pojava autističkih manifestacija, gubitak svrsishodnih pokreta ruke koje smenjuju stereotipni pokreti. Pored navedenog, klinička slika često podrazumeva i poremećen mišićni tonus, ataksiju, apraksiju, poremećaje autonomnog nervnog sistema i, u velikom broju slučajeva, epilepsiju (Rett, 1966; Hagberg i sar, 1983, Neul i sar, 2010, Glaze i sar, 2010). Poremećaji disanja su jedna ključnih od karakteristika RTT i ispoljavaju se u vidu hipo- ili hiperventilacije tokom budnog stanja, respiratornim krizama (engleski naziv - breath holding spells), aerofagijom, forsiranom ekspanzijom vazduha i pljuvačke i apnejom.

Iako je normalan rani postnatalni razvoj (tokom prvih 6 meseci) deo kriterijuma za dijagnozu RTT, ipak se hipotonija u ovom periodu opisuje kod značajnog broja devojčica (Marschik i sar, 2013). U drugoj polovini prve godine života se obično zapaža da je psihomotorni razvoj usporen, a posebno su izmenjeni obrasci koordinacije pokreta oka i šake. Dijagnoza se postavlja na osnovu kliničke slike a molekularna dijagnostikovanja treba da bude sprovedena ali negativan nalaz ne isključuje dijagnozu RTT (Neul i sar, 2010).

### I.6.1. Klinički stadijumi Retovog sindroma

Klinička evolucija RTT je podeljena u nekoliko karakterističnih stadijuma (Witt Engerstrom, 1990; Hagberg i Gilberg, 1993, Neul i sar, 2010). Sistem stadiranja ima za cilj da pomogne kliničarima u praćenju toka bolesti, planiranju terapijskih intervencija i diferencijalnoj dijagnozi u odnosu na druge neurorazvojne poremećaje. Opisana su 4 klinička stadijuma Retovog sindroma:

#### Stadijum I – Period rane stagnacije

Obično traje od 6. do 18. meseca sa više ili manje naglom promenom u komunikacijskim sposobnostima odojčeta kao prvom manifestacijom. Najčešće majke primećuju ovu promenu i opisuju je kao smanjenju potrebu deteta za pažnjom. Kod drugih devojčica, prvi znak može biti razdražljivost ili nemir. Uznemirenost u ovom uzrastu je često od strane roditelja protumačena kao posledica izbijanja zuba. U prvom stadijumu bolesti može

se javiti i početno, diskretno usporenje telesnog rasta. Deca uglavnom ostvare sposobnost samostalnog sedenja, ali puzanje i samostalan hod često ostaju nedostižni. Brbljanje i izgovaranje prve reči se obično događaju, ali dalji razvoj govora je obično zaustavljen. (Witt Engerstrom, 1990; Hagberg 1993, Neul i sar, 2010).

#### Stadijum II – Period brze razvojne regresije

Prelazak iz I u II stadijum se dešava u uzrastu između 1. i 4. godine života. Karakteriše se brzim i specifičnim gubitkom stečenih sposobnosti. Početak ovog stadijuma je nagao, nekada u toj meri da se njegove manifestacije nazivaju još i *pseudotoksičnim*: visokointoniran plač, skokovi telesne temperature i apatija mogu sugerisati meningoencefalitis i biti razlog za hitnu hospitalizaciju. Ovakve akutne manifestacije na početku II stadijuma mogu trajati danima ili nedeljama. Nakon “oporavka”, roditelji primećuju da su detetove sposobnosti pretrpela dramatičnu regresiju. Kod jednog broja bolesnika, opadanje komunikacijskih sposobnosti je postepenije i znatno sporije; iako kontakt očima može biti i očuvan, vidljiv je gubitak interesa za ljude i okolinu uopšte. Gube se prethodno stečene sposobnosti brbljanja, govora i fine motorike, te mentalni deficit postaje očigledan. Dete više ne ispoljava radoznalost, ne pruža ruku ka igračkama niti barata objektima, već svrshishodni pokreti šakama bivaju zamenjeni stereotipnim pokretima. Javljaju se gotovo patognomonične manifestacije: čupanje kose, lupanje po glavi. Tokom noći se javljaju napadi plača, a uobičajene su epizode febrinosti. Povećan je rizik za pojavu febrilnih konvulzija, kao i mogućnost pojave prvih epileptičkih napada. Počinju da se ispoljavaju stenjanje, pljuvanje, hipersalivacija, hiperventilacija, grimasiranje; navedeni znakovi se danas smatraju posledicom nedovoljne maturacije struktura moždanog stabla. Dodatno usporenje rasta obima glave je karakteristika ovog stadijuma, ali se ne javlja kod svih bolesnika. (Witt Engerstrom, 1990; Hagberg 1993, Neul i sar, 2010).

#### Stadijum III – Pseudostacionarni period

Ovaj stadijum bolesti počinje sa završetkom regresije. Najupadljivija karakteristika je odsustvo svrshishodnih pokreta šake. Tipične stereotipije šakama su veoma izražene u ovoj fazi i predstavljaju najpoznatije odličje bolesti: pokreti kršenja ruku, pranja ruku i tapšanja dlanovima. Značajan broj bolesnika uspeva da ponovo uspostavi kontakt očima sa drugim osobama, postaju zainteresovanije, budnije i radosnije. Pokretima očnim jabučicama pokazuju svoju želju i potrebu. Iregularnosti disanja, međutim, postaju izraženije u ovom stadijumu

nego u prethodnom. Naleti noćnog smeha, često dremanje u toku dana i nesanica, naleti plača i nagle agitacije su neke od karakteristika III stadijuma. Epileptički napadi su relativno česti i obično zahtevaju primenu antiepileptičke politerapije. Često se, međutim, dešava i remisija epileptičkih napada. U III stadijumu se prvi put zapaža neurogena skolioza koja obično ima progresivan i brz tok i često zahteva hirurško lečenje. Od drugih manifestacija treba pomeniti i pojavu hladnih stopala i šaka, te skraćenje Ahilovih tetiva koje vodi u deformitet stopala. Devojčice sa blažim fenotipom mogu sačuvati govor i upotrebu šaka. U III stadijumu koji može trajati i decenijama motorna regresija se nastavlja ali veoma sporo. Istovremeno, u kognitivnoj sferi se odvija diskretan napredak. (Witt Engerstrom, 1990; Hagberg 1993, Neul i sar, 2010, Smeets i sar, 2012).

#### Stadijum IV – Kasna motorna deterioracija

Ovaj stadijum počinje kada dođe do konačnog prestanka hoda i nastupi potpuna vezanost bolesnika za invalidska kolica. Mnoga deca sa teškim kliničkim fenotipom nikada i ne prohodaju samostalno tako da njihov klinički tok već iz drugog stadijuma prelazi u četvrti pod slikom teškog hendikepa sa naglašenom mišićnom atrofijom, hladnim i diskoloričnim stopalima. U IV stadijumu su stereotipije šake manje izražene, a kontakt očima ostaje očuvan kao najvažniji vid komunikacije RTT bolesnika. (Witt Engerstrom, 1990; Hagberg 1993, Neul i sar, 2010, Smeets, 2012).

#### I.6.2. Dijagnostički kriterijumi za Retov sindrom

Dijagnoza Retovog sindroma se bazira na kliničkim kriterijumima koji su tokom prethodnih decenija neznatno modifikovani. U upotrebi je revidirani konsenzus o dijagnostičkim kriterijumima za RTT iz 2010. godine koji je, zajedno sa nomenklaturom bolesti, predložio Konzorcijum istraživača RTT (RetSearch Consortium) sastavljen od eksperata iz trinaest zemalja (Neul i sar, 2010). Doneti konsenzus prepoznaje i postojanje atipičnih oblika RTT koji imaju većinu fenotipskih karakteristika RTT, ali nedovoljno za dijagnozu klasičnog RTT. Do sada su najbolje dokumentovane tri forme atipičnog RTT: oblik sa očuvanim govorom, oblik sa ranim početkom napada i kongenitalni oblik RTT.

Od kraja prošlog veka kada je američka grupa istraživača utvrdila genetsku osnovu za RTT (Amir i sar, 1999.), vodi se debata da li i rezultat molekularnog testiranja u MECP2 genu treba da bude uključen u dijagnostičke kriterijume RTT. Koristeći moderne tehnike detekcije,

danas se mutacije u MECP2 genu otkrivaju kod 95 do 97% obolelih od klasičnog RTT (Neul i sar, 2008). Važno je istaći, međutim, da i pored pune kliničke slike klasičnog RTT kod 3-5% obolelih ne može da se identifikuje mutacija u MECP2. Kod atipičnih formi RTT, 20-70% obolelih ima mutacije u MECP2 genu (Raizis i sar, 2009; Matijević i sar, 2009). S druge strane, prisustvo mutacija u navedenom genu je dokazano i kod obolelih od drugih kliničkih entiteta, kao što su rana postnatalna encefalopatija, autizam, bolest slična Angelmanovom sindromu, ali je dokazano čak i kod zdravih osoba ženskog pola (Watson i sar, 2001; Shibayama i sar, 2004; Cohen i sar, 2002). Stoga je prihvaćeno da, za sada, rezultat molekularnog testiranja nije kriterijum za postavljanje dijagnoze RTT (Neul i sar, 2010).

Kriterijumi za dijagnozu RTT iz 2002. godine sadržali su osam obaveznih kriterijuma, pet kriterijuma koji su isključivali dijagnozu RTT i osam pomoćnih kriterijuma (Hagberg i sar, 2002). Tadašnje preporuke su ostavljale mogućnost da jedan od obaveznih kriterijuma ne bude zadovoljen (postnatalna deceleracija rasta glave), a, takođe, nije bilo zahteva za prisustvom bilo kojeg od suportivnih kriterijuma. Kriterijumi iz 2010. godine su nastali kao pokušaj da se dodatno olakša dijagnostika RTT, kako tipičnog, tako i atipičnih oblika. Tako je npr. kriterijum postnatalne deceleracije obima glave odstranjen iz obaveznih kriterijuma (jer nije univerzalna karakteristika bolesti) ali je prebačena je u preambularni deo zbog svoje velike dijagnostičke vrednosti.

**“Revidirani dijagnostički kriterijumi za Retov sindrom iz 2010. godine (RettSearch Consortium; Neul i sar, 2010):**

Preambula:

Razmotriti dijagnozu RTT uvek kada je prisutno postnatalno usporavanje porasta obima glave.

***Obavezni kriterijumi za tipični ili klasični RTT***

---

1. Period regresije koji je praćen periodom oporavka ili stabilizacije\*
2. Svi glavni kriterijumi i svi ekskluzioni kriterijumi zadovoljeni

3. Suportivni kriterijumi nisu neophodni iako su često prisutni kod tipičnog RTT

### ***Obavezni kriterijumi za atipični ili "variant" RTT***

---

1. Period regresije koji je praćen periodom oporavka ili stabilizacije\*
  2. Najmanje dva od četiri glavna kriterijuma
  3. Najmanje pet od 11 suportivnih kriterijuma
- 

### **Glavni kriterijumi**

1. Parcijalni ili kompletni gubitak stečenih svrsishodnih pokreta šake
  2. Parcijalni ili kompletni gubitak stečenih govornih sposobnosti\*\*
  3. Abnormalnosti hoda: poremećen (dispraksičan) hod ili nemogućnost hoda
  4. Stereotipni pokreti šake kao što su kršenje ruku, stezanje šaka, tapšanje dlanovima, stavljanje ruku u usta, automatizmi pranja i trljanja ruku
- 

### **Pomoćni kriterijumi za tipični RTT**

1. Oštećenje mozga usled traume (perinatalne ili postnatalne), neurometabolička bolest, teška infekcija koja izaziva neurološka oštećenja\*\*\*
  2. Težak poremećaj psihomotornog razvoja tokom prvih šest meseci života #
- 

### **Suportivni kriterijumi za atipični RTT ##**

1. Poremećaji disanja u budnom stanju
2. Škrgutanje zubima u budnom stanju
3. Poremećaj obrasca spavanja
4. Poremećen mišićni tonus
5. Periferni vazomotorni poremećaji

6. Skolioza/kifoza
7. Usporen telesni rast
8. Mala i hladna stopala i šake
9. Naleti neadekvatnog smejanja ili vrištanja
10. Smanjena reakcija na bol
11. Intenzivna komunikacija očima (“eye pointing”)

\*S obzirom da se sada *MECP2* mutacije identifikuju kod pacijenata i pre jasnog dokaza za regresiju, dijagnoze “mogućeg” RTT treba da bude postavljena kod osoba mlađih od 3 godine koji još uvek nisu izgubili sposobnosti ili imaju kliničku sliku sa koja sugerše RTT. Ove pacijente treba reevaluirati na svakih 6–12 meseci i tražiti elemente regresije. Ako se regresija ispolji, onda se postavlja konačna dijagnoza RTT. Ako ne ispolji regresiju do 5 godina života, onda treba dovesti u pitanje dijagnozu RTT.

\*\* Gubitak stečenog govora je definisan preko najbolje dostignutog stepena govora, a ne strogo na bazi određenih reči ili viših govornih sposobnosti. Na primer, dete koje je naučilo da brblja (babble) a onda je izgubilo ovu sposobnost zadovoljava kriterijumu za gubitak stečenog govora.

\*\*\* Potreban je jasan dokaz (neurološki ili oftalmološki pregled ili MR/CT snimanje) koji ukazuje da je izvesni faktor direktno rezultirao neurološkim oštećenjem.

#Karakterizacija “težak poremećaj” se odnosi na stanje kada normalni miljokazi razvoja nisu dostignuti (kontrola pokreta glave, gutanje, razvoj socijalnog osmeha). Blaga generalizovana hipotonija ili druga blaga razvojna odstupanja tokom prvih šest meseci života ne spadaju u ekskluzivne kriterijume za RTT.

##Ukoliko su bilo kada ispoljene opisane kliničke karakteristika opisane, smatra se da je dati suportivni kriterijum zadovoljen. Mnoge od ovih karakteristika zavise od uzrasta te mogu biti manje ili više ispoljene u različitoj dobi pacijenta. Stoga, dijagnoza atipičnog RTT može biti jednostavnija u starijem uzrastu jer je bilo više vremena da se neki od suportivnih kriterijuma zadovolje. U slučajevima dece mlađe od 5 godina koja imaju period regresije i  $\geq 2$  glavna kriterijuma ali ne i 5 od 11 suportivnih kriterijuma, dijagnoza “verovatnog atipičnog RTT” može biti postavljena. Pacijenti koji pripadnu ovoj kategoriji, moraju biti reevaluirani tokom narednog perioda kako bi dijagnoza bila potvrđena ili osporena.”

### I.6.3. Atipični oblici Retovog sindroma

Hagberg i sar su 1995. godine sublimirao saznanja o karakteristikama pet entiteta koja je označio kao atipični Retov sindrom: 1) varijantu RTT sa početkom napada u ranom odojačkom periodu, 2) kongenitalnu varijantu RTT, 3.) blagu formu (tzv 'forme fruste') RTT (4.) oblik sa kasnom regresijom (5) oblik sa očuvanim govorom.

Naime, izvestan broj bolesnika sa jasnom neurorazvojnoum regresijoum ima mnoge, ali ne i sve neophodne kriterijume za dijagnozu klasičnog RTT. Ovakvi slučajevi se smatraju atipičnim RTT a do sada su najbolje dokumentovana tri klinička obrasca u koje se ovi bolesnici mogu uklopiti: oblik sa očuvanim govorom, oblik sa ranim početkom napada i kongenitalni oblik. Pored zajedničkih kliničkih karakteristika, savremena istraživanja ukazuju i da za neke od ovih poremećaja postoji definisana genetička osnova koja dodatno potencira njihovu razliku u odnosu na tipični oblik RTT.

#### I.6.3.1. Oblik sa očuvanim govorom

Oblik RTT sa očuvanim govorom je najčešća forma atipičnog RTT. Karakteriše se blažim tokom bolesti od tipičnog RTT i bolje očuvanim govorom nakon perioda regresije (Zapella i sar, 1998). Govor je značajno bolji u poređenju sa obolelima od tipičnog RTT i ta deca mogu izgovarati čak i cele rečenice. Govor nikada nije u potpunosti normalan i najčešće je karakteristan eholalijom i perseveracijom. Pored boljeg statusa govora, deca sa ovim oblikom atipičnog RTT imaju bolje očuvanu funkciju šake, bolju sposobnost hoda i manje izražene stereotipije. Zastoj u telesnom rastu takođe nije toliko naglašen kao kod tipičnog RTT, tako da su pojedina deca sa ovim oblikom gojazna, pa čak i makrocefalična. Autistički elementi i agresivno ponašanje se više susreću kod oblika sa očuvanim govorom nego kod tipičnog RTT, tako da je često diferencijalno-dijagnostičko razmatranje ovog poremećaja u kontekstu drugih bolesti iz autističkog spektra, naročito ako stereotipije nisu izražene. Gotovo svi bolesnici sa ovim oblikom RTT imaju mutacije u MECP2 genu (Renieri i sar, 2009).

#### I.6.3.2. Oblik sa ranim početkom napada

Konvulzivni napadi u prvoj godini života nisu uobičajeni za tipični RTT. Stoga je kod bolesnika sa konvulzivnim napadima u prvoj godini života dijagnoza RTT dugo dovođena u pitanje. Napadi se kod oblika sa ranim početkom napada mogu se ispoljiti kao veoma teška

forma rane epilepsije. Regresija počinje istovremeno sa napadima, što je znatno drugačije od kliničke slike tipičnog RTT. Bolesnici sa ovom formom RTT češće imaju elemente autizma u kliničkoj slici. Kod njih se retko pronalaze mutacije u MECP2 genu ali se kod značajnog broja opisuju promene u genu za ciklin zavistan kinazi sličan protein 5 (*Cyclin-dependent kinase like-5 - CDKL5*) (Nemos i sar, 2009). S obzirom da ovi pacijenti imaju posebnu genetičku osnovu i da klinička slika, i pored dodirnih tačaka, u značajnoj meri odudara od slike klasičnog RTT, razmatra se reklasifikacija ove bolesti u poseban epileptički entitet nezavistan od RTT (Guerrini i sar, 2012).

### I.6.3.3 Kongenitalna varijanta RTT

Kod nekih osoba sa kliničkom slikom atipičnog RTT izostaje faza normalnog razvoja i mikrocefalija biva prisutna od samog rođenja. Tokom ranog razvoja je, kod ovog poremećaja, veoma teško razgraničiti gubitak od odsustva sticanja određenih sposobnosti. Skorija istraživanja su pokazala da su mutacije u *FOXG1* genu prisutne kod nekih pacijenata sa kongenitalnom varijantom RTT. Mutacije u *FOXG1* su udružene sa strukturnim anomalijama mozga, naročito sa parcijalnom agenezijom korpusa kalozuma, što nije uobičajeno kod tipičnog RTT. Manji broj bolesnika ima mutacije u MECP2 genu. Slično kao za tip sa ranim početkom napada, i kongenitalna varijanta RTT bi s vremenom i daljim otkrićima iz sfere molekularne osnove, mogla biti izdvojena u poseban entitet, odvojen od RTT (Jacob i sar, 2009).

## **I.6.4. Epilepsija u Retovom sindromu**

### I.6.4.1. Epidemiološki aspekti epilepsije u Retovom sindromu

Epilepsija predstavlja važan deo kliničke slike RTT a time i značajan problem u svakodnevnom životu bolesnika i njihovih porodica. Utvrđeno je da među obolelima od RTT epilepsija ima visoku prevalenciju. U švedskoj studiji izvedenoj na devojkicama i ženama sa RTT uzrasta od 5 do 55 godina, ustanovljeno je da više od 90% ispitanica ima istoriju epilepsije (Steffenburg i sar, 2001). Postoje značajne razlike između studija po pitanju zastupljenosti epilepsije u ovih bolesnika i ona varira od 50 do 94% (Jian i sar, 2007; Dolce i sar, 2013). Velika multicentrična studija u SAD pokazala je učestalost epilepsije od 60%



(Glaze i sar, 2010). Ova studija je izvedena na podacima Mreže za kliničke studije retkih bolesti (Rare Disease Clinical Research Network) i obuhvatila je 602 bolesnika sa RTT (528 sa klasičnim RTT). Približna učestalost epilepsije je utvrđena kod klasičnog RTT (60%) i atipičnog RTT (61%) ( $p = 0,984$ ). Epilepsija je imala povezanost sa uzrastom, tako da je do uzrasta od 15-20 godina njena zastupljenost rasla do 86%, da bi u kasnijem uzrastu ponovo počela da opada. Druga velika multicentrična studija koju su izveli kineski i australijski istraživači, slično Glazeu i sar, daje podatak da je učestalost epilepsije među više od 600 ispitanih pacijentkinja iznosila 61% i da je više od pola bolesnika imalo prvi epileptički napad pre pete godine života (Bao i sar, 2013).

Srednji uzrast u kome se prvi put epileptički napadi javljaju se zapaža između 3 i 4 godine, sa širokim rasponom pojavljivanja od 2 meseca do 27 godina (Nissenkorn i sar, 2010; Steffenburg i sar, 2001). Najčešći tip napada u Steffenburgovoj studiji su bili parcijalni kompleksni, toničko-klonički, tonički i mioklonički napadi. Parcijalni napadi su se javljali kod 62% obolelih. I druge studije potvrđuju da su generalizovani toničko-klonički napadi i kompleksni parcijalni napadi najčešći napadi u sklopu RTT, a nešto ređe se susreću prosti parcijalni napadi, apsansi i mioklonizmi (Witt-Engerstrom i sar, 1992). Kod čak 54% bolesnika epilepsija je bila veoma teška za lečenje. Posle 20. godine života epilepsija je imala blaži klinički tok kod obolelih od RTT. Kod pacijentkinja sa ranom pojavom napada (pre 3. meseca), postoji visoka verovatnoća da se radi o mutaciji u CDKL5 genu. Prema nalazima Glazeove studije, prvi napadi su se obično javljali između druge i treće godine života, sa porastom incidencije tokom puberteta (Glaze i sar, 2010). Retka je pojava epilepsije pre navršene 3 godine života ili posle 20. godine. Huppke i saradnici su 2007. sproveli retrospektivnu analizu antiepileptičke terapije kod 110 obolelih od RTT. U ovoj studiji, 58% pacijentkinja je imalo istoriju epilepsije. Prvi napad se javljao u uzrastu između 10 meseci i 28 godina (medijana 4 godine i 3 meseca).

Prema iskustvima izraelske grupe, prvi napadi se javljaju najčešće između druge i pete godine, odnosno krajem II stadijuma bolesti što odgovara periodu kliničke stabilizacije. Postoji veća tendencija za pojavljivanje napada tokom interkurentnih infekcija udruženih sa febrilnošću (Lotan i sar, 2006).

Od studija koje potiču iz zemalja iz našeg geografskog okruženja treba pomenuti slovenačko istraživanje koje je obuhvatilo 19 devojčica sa RTT srednjeg uzrasta 15,5 godina (raspon 3,5-30 godina) i njihov 15-godišnji klinički tok. Retrospektivna analiza je pokazala da je 84% devojčica imalo epilepsiju. Srednji uzrast početka epilepsije je bio 4,4 godine, a 44% je razvilo epilepsiju pre navršene 3 godine života (Krajnc i sar, 2011).

Faktori koji bi omogućili predikciju evolucije epilepsije u RTT nisu još razjašnjeni, mada istraživanja sugerisu da pojava razvojnih problema pre 10. meseca i odsustvo hodanja predstavljaju rizik za pojavu epilepsije (Jian i sar, 2007). Prema rezultatima američke multicentrične studije (Glaze i sar, 2010), epilepsija je bila udružena sa višim CSS skorom a obim glave nije uticao na rizik za pojavu epilepsije što je u suprotnosti sa rezultatima švedskih autora (Steffenburg i sar, 2001).

Pojedine mutacije u MECP2 genu su povezane sa povećanim rizikom za epilepsiju. Američka i australijska studija ukazuju da bi mutacija R255X mogla imati protektivni efekat na pojavu epilepsije (Jian i sar, 2007; Glaze i sar, 2010). Bolesnici koji su bili negativni na MECP2 mutaciju nisu se po prisustvu epilepsije značajno razlikovali od onih sa dokazanom mutacijom. Od osam najčešćih mutacija za RTT, mutacija T158M je nosila najveću predispoziciju za pojavu epilepsije (74%). Takođe, nosioci mutacija R255X i R306C su pokazivali tendenciju za manji broj napada (ali bez statističke značajnosti) (Glaze i sar, 2010). Prema podacima iz izraelskog Nacionalnog centra za Retov sindrom, svi bolesnici sa ranom pojavom epilepsije (pre punih godinu dana uzrasta), bili su negativni na MECP2 mutacije (Nissenkorn i sar, 2010). Epilepsija je bila prisutna kod 72% bolesnica iz ovog uzorka. Ista studija, međutim, ukazuje da nije mogla biti dokazana jasna korelacija između genotipa i epilepsije. Prema kinesko-australijskoj studiji, velike delecije MECP2 gena su bile udružene sa ranim početkom epilepsije, a slična tendencija je zapažena i kod nosilaca mutacija R106W, R168X, R255X, T158M i R270X (Bao i sar, 2013). Najviši rizik za refrakternu epilepsiju imali su nosioci R168X i R255X mutacije. Nosioci mutacija R133C i R294X imaju kasniji početak i nižu incidenciju epilepsije, srednji rizik za epilepsiju su imali nosioci R306C i C-terminalnih mutacija (Bao i sar, 2013).

#### I.6.4.2. EEG poremećaji kod Retovog sindroma

EEG abnormalnosti kod RTT su dobro dokumentovane. Tokom prvog stadijuma bolesti EEG je obično normalan, ali kod jednog broja dece epileptiformna aktivnost je

prisutna tokom spavanja. U drugom stadijumu dolazi do usporavanja osnovne aktivnosti i često se zapažaju centralni ili centrotemporalni šiljci. U trećem stadijumu bolesti dolazi do daljeg usporavanja osnovne aktivnosti i pojave pražnjenja sa multifokalnim oštrih talasima. U četvrtom stadijumu epileptiformna aktivnost u EEG-u postaje još izraženija, naročito u toku spavanja. Kod manjeg broja pacijenata, dolazi i do smanjenja broja pražnjenja u četvrtom stadijumu (Huppke i sar, 2007).

Elektroencefalografske abnormalnosti se mogu razviti kod RTT bolesnika koji nemaju konvulzije. EEG je obično normalan tokom ranog stadijuma bolesti, ali u daljem toku dolazi do postepenog usporavanja osnovne aktivnosti i pojave epileptiformnih pražnjenja. Krajnc i sar opisuju sledeće EEG obrasce kod RTT: u toku prvog stadijuma može se zapaziti usporenje okcipitalne aktivnost u budnom stanju; u stadijumu 2 se obično susreće gubitak nonREM obrasca tokom sna i pojava fokalnih šiljaka ili oštrih talasa u snu a potom i u budnom stanju; u trećem stadijumu se javljaju generalizovani spori šiljak-talas komplekski ili ritmički delta talasi iznad centralnih regiona. Delta ritam usporene osnovne aktivnosti, multifokalna epileptiformna aktivnost u budnom stanju i generalizovani spori šiljak talas komplekski su karakteristika stadijuma 4 (Krajnc i sar, 2011). EEG promene, međutim, nisu dijagnostičke niti imaju patognomonične elemente za RTT; korelacija kliničkog i EEG nalaza nije jasna niti konstantna. Neke ne-konvulzivne manifestacije RTT mogu biti pogrešno interpretirane kao epileptički napadi, te je stoga vrednost video EEG metoda velika u diferencijalnoj dijagnozi. Video EEG je omogućio da se dokaže kako jedan broj fenomena koje roditelji karakterišu kao napade nema epileptičko poreklo, tako da je pretpostavljeno da bi broj RTT bolesnika sa epilepsijom mogao biti čak za 20% manji nego što je dijagnostikovano (Glaze i sar, 2010).

#### I.6.4.3. Lečenje epilepsije kod obolelih od Retovog sindroma

Radovi koji se bave lečenjem epilepsije u RTT nisu brojni i uglavnom uključuju relativno male serije bolesnika. Ne postoji precizan konsenzus o strategiji antiepileptičke terapije u ovoj bolesti.

Najčešće korišćeni lekovi u Steffenburgovoj grupi bolesnika sa RTT su bili karbamazepin, lamotrigin i valproat. Uldaall i sar. su još 1993. opisali visoku efikasnost lamotrigina kod pacijenata sa RTT s obzirom da je postignuto smanjenje frekvencije napada za najmanje 50% kod svih lečenih. Lamotrigin se pokazao uspešnim i u studiji Stenboma i

sar. Goyal i sar su lečili 8 RTT bolesnica topiramatom (dve su primale lek kao monoterapiju) i poboljšanje kontrole napada je postignuto kod svih lečenih. Postoje i izveštaji o uspešnosti ketogene dijeta u RTT (Dolce i sar, 2013).

U grupi austrijskih bolesnica sa RTT korišćeno je 12 različitih antiepileptika: karbamazepin, klobazam, lamotrigin, levetiracetam, okskarbazepin, fenobarbiton, fenitoin, primidon, sultiam, topiramat, valproat i vigabatrin (Huppker i sar, 2007). Početna monoterapija je dala pozitivne efekte kod 62% obolelih. Korekcija uvođenjem monoterapije drugim lekom je dala značajnu redukciju napada kod samo 38% obolelih. Politerapija je sledila nakon neefikasne monoterapije i davala je smanjenje učestalosti napada za više od 50% kod 42% bolesnika i period bez napada duži od 6 meseci kod 40%. Sultiam je redukovao napade za 50% kod 64% bolesnika na monoterapiji, a karbamazepin kod 71% lečenih. Valproat je kod 38% bolesnika na monoterapiji prepolovio učestalost napada, a šestomesečnu remisiju uspostavio samo kod 6% obolelih. Sa visokom statističkom značajnošću ova studija je utvrdila da je karbamazepin najuspešniji lek u terapiji RTT. U istom istraživanju, bilo je 9 pacijentkinja koje su primale antiepileptike iako nisu imale epilepsiju, uglavnom zbog patološkog EEG ili zbog teških nekonvulzivnih pojava (kao što je česta hiperventilacija). Antikonvulzivi kod ovih pacijentkinja nisu doveli do značajnog poboljšanja tegoba.

Izbor prvog leka u terapiji epilepsije kod RTT je za sada uglavnom motivisan individualnim iskustvom i procenom nadležnog neurologa jer ne postoji jasan terapijski algoritam za epilepsiju kod ove bolesti. Huppke i sar. (2007) su zaključili da je politerapija neznatno uspešnija od druge monoterapije. Takođe, utvrđeno je da unutar populacije obolelih od RTT postoji grupa pacijenata sa veoma refrakternom epilepsijom koja se ne kontroliše dobro ni politerapijom. Karbamazepin i sultiam su se pokazali najuspešnijim kao monoterapijski agensi, a nemačke pacijentkinje su u proseku primale karbamazepin skoro 9 godina što ukazuje na njegovu efikasnost. Neželjeni efekti su registrovani kod 40% pacijentkinja što odgovara i drugim grupama bolesnika na antiepileptičnoj terapiji.

Relativno niska efikasnost valproata u lečenju epilepsije bolesnika sa RTT koju opisuju neki centri, može se dovesti u vezi sa patofiziologijom osnovne bolesti. U nedostatku MeCP2 proteina postoji hiperacetilisanost histona. Valproat najverovatnije potencira hiperacetilisanost inhibišući histonske deacetilaze, delujući sinergistički sa mutacijom u

MECP2 genu (Shahbazian i sar, 2002). Lamotrigin se u nekim studijama pokazao kao efikasan kod obolelih od RTT, ali Huppke i sar nisu potvrdili ove nalaze.

Prema rezultatima slovenačke studije, remisija napada posle prve monoterapije je postignuta kod 56% i trajala je duže od 2 godine (Krajnc i sar, 2011). Druga monoterapija je dovela do remisije u trajanju od 6-36 meseci kod 18,5% bolesnika. Sedam od šesnaest devojčica je lečeno kombinovanom terapijom. Valproat, lamotrigin i karbamazepin su najčešće korišćeni lekovi kao monoterapija, a praćeni su vigabatrinom, fenobarbitonom i klobazamom. U celoj grupi je korišćeno deset različitih antiepileptika (prema frekvenci: valproat, lamotrigin, karbamazepin, klobazam, levetiracetam, topiramatom, vigabatrin, fenobarbiton, nitrazepam, fenitoin. Terapija valproatom je bila uspešna kao monoterapija kod 75% pacijenata. Lamotrigin je doveo do pune kontrole napada kod 50% bolesnika na monoterapiji, a uspešnost karbamazepina je bila ista kao i lamotrigina. Levetiracetam je postizao punu kontrolu napada, ali u kratkom vremenskom periodu (tokom 10 meseci u proseku). Monoterapija je korišćena kod 44% pacijenata tokom celog toka lečenja, 18,5% je dobijalo 2 leka, a 37,5% tri leka. Kod pacijenata sa remisijom epilepsije, poslednji napad je registrovan u srednjem uzrastu od 8,5 godina (raspon od 6 do 15,5 godina). I u grupi Jian i sar najkorišćeniji lek je bio valproat, a sledili su lamotrigin i karbamazepin. Najniža stopa napada je zapažena kod monoterapije valproatom i karbamazepinom ili prilikom istovremene upotrebe ova dva leka. U radu Krajnc i sar, pokazalo se da posle 15. godine života postoji jasna tendencija ka smanjenju broja napada, čak i kod onih bolesnika koje su prethodno imale farmakorezistentnu epilepsiju.

Prema američkoj multicentričnoj studiji, kod 37% pacijentkinja primenjuje se jedan lek, 8% prima 3 ili više lekova, a kod 20% je terapija ukinuta (Glaze i sar, 2010). Stimulacija vagusnog nerva korišćena je kod 13%, a ketogena dijeta kod 12% obolelih. Najčešće korišćeni lek je karbamazepin (37%), a potom slede lamotrigin (33%) i levetiracetam (26%). S obzirom da pacijenti koji nisu imali konvulzije nisu imali nikakav benefit od antikonvulzivne terapije, može se zaključiti da ove lekove treba izbegavati u lečenju nekonvulzivnih komplikacija RTT.

S obzirom da je epilepsija udružena sa težom kliničkom slikom, iz toga sledi i da njeno prisustvo negativno utiče na porodični kvalitet života (Bahi-Buisson i sar, 2008). Rezultati ove francuske studije pokazali su da 54% roditelja dece sa RTT smatra da je epilepsija najveći problem u okviru ove bolesti. U 68% porodica dece sa RTT, epilepsija je značajno narušavala

kvalitet života, najviše u sferi osećanja straha. Praktične teškoće vezane za epilepsiju su se najviše odnosile na probleme u pronalaženju negovatelja.

### **I.6.5. Respiratorne manifestacije RTT**

Najvažnije respiratorne manifestacije Retovog sindroma su posledica poremećaja respiratorne kontrole i uključuju širok spektar kliničkog ispoljavanja: hiperventilaciju, iregularno disanje, zadržavanje daha (eng. - breath holding spells), apnoične krize, aerofagiju. Disajne abnormalnosti u Retovom sindromu su svrstane u dijagnostičke kriterijume za ovo oboljenje kao pomoćni kriterijum (Neul i sar, 2010). Navedene manifestacije se javljaju prevashodno u budnom stanju, ali se registruju i tokom spavanja.

Zbog svoje učestalosti, hiperventilacija ima poseban značaj u kliničkoj slici RTT. U medicinskoj literaturi elaborirani su brojni mehanizmi kojima hiperventilacija remeti homeostazu organizma: od biohemijskih promena u smislu respiratorne alkaloze i sledstvenog pada koncentracije jonizovanog kalcijuma, do kliničkih korelata u vidu parestezija, tetanije, povećane frekvencije epileptičkih napada i indukcije interiktalne epileptogene aktivnosti koja se beleži elektroencefalografski (Kerr i sar, 1999). Čak i kod zdrave dece, voljna hiperventilacija može indukovati promene na EEG, uglavnom nad cerebralnim korteksom, smanjiti dostavljanje kiseonika u moždane ćelije i izazvati poremećaje repolarizacije na EKG (depresiju ST segmenta i inverziju T talasa) (Alexopoulos i sar, 1996). S druge strane, patofiziološke osnove nastanka same hiperventilacije su znatno manje razjašnjene.

Respiratorni problemi u RTT se uobičajeno pripisuju nezrelosti struktura moždanog stabla i centralnoj autonomnoj disfunkciji (Smeets i sar, 2012). Ventrolateralni region produžene moždine je deo mozga u kome se registruje pojačana neuronska aktivnost sinhrona sa hiperventilacijom, bilo da je ona voljna ili patološka (npr. kod RTT) (Julu i sar, 1997, Ramirez i sar, 2013). Pretpostavlja se da postinspiratorni period predstavlja najvulnerabilniji deo respiratornog ciklusa kod RTT te da disregulacija neuronske aktivnosti u ovom periodu leži u osnovi centralnih apneja i kriza zadržavanja daha kod ovih bolesnika (Weese-Mayer i sar, 2006). Hiperventilacija je najčešći od 14 opisanih poremećaja respiratornog ritma kod obolelih od RTT (Kerr i sar, 1999). Kod obolelih devojčica mlađeg uzrasta dominiraju poremećaji po tipu protrahovane inspiracije i apneustičkog disanja, dok se kod pacijentkinja u četvrtom stadijumu bolesti najčešće susreću krize zadržavanja vazduha. Uobičajeni obrazac

kojim se manifestuju poremećaji respiratornog ritma obuhvata neku od kombinacija hiperventilacije i hipoventilacije (Ramirez i sar, 2013). Kod jednog broja bolesnika sa RTT poremećaj autonomne regulacije može biti veoma težak i uključiti epizode hipotenzije, pada vagalnog tonusa srca i smanjenja frekvencije srčanog rada do intrinzičnog ritma sinoatrijalnog čvora što zajedno odgovara stanju “isključenja moždanog stabla” (eng. brainstem shutdown) (Julu i sar, 2001). U dosadašnjim saopštenjima o anesteziološkim aspektima RTT ukazuje se na rizike od opšte anestezije asociirane sa ovom bolešću (Dearlove i sar, 1996; Nho i sar, 2011).

Tokom poslednjih nekoliko godina sprovedena su pulmološka ispitivanja čiji je cilj bio da ustanove u kojoj meri je respiratorna patologija u RTT uslovljena za bolest specifičnim promenama u plućima. U cilju ovakve procene, italijanski istraživači su za vizualizaciju pluća koristili visokorezolutivnu kompjuterizovanu tomografiju (high resolution computerized tomography - HRCT) (De Felice i sar, 2010). Poremećen nalaz HRCT snimaka pluća bio je prisutan kod 15 od 27 (55,5%) bolesnika. Najčešći nalaz, u ovoj studiji, bili su centrilobularni noduli (10/15, 66,7%), zadebljanje bronhijalnih zidova (8/15, 53,3%), i mrljasta zamućenja po tipu mlečnog stakla (4/15, 26,7%). Pored toga, bronhiektazije su pronađene kod devet od petnaest (60%) pacijenata sa patološkim nalazom HRCT. Lezije su bile raspoređene u svim delovima pluća, sa nešto većom zastupljenošću u gornjim plućnim režnjevima. Zahvaćenost plućnog parenhima opisanim promenama je bila u rasponu od veoma blage do masivne i obostrane. Plućne manifestacije su bile značajno teže kod pacijenata starijih od 11 godina. Čak 46,7% pacijenata sa opisanim plućnim promenama je imalo abnormalnosti nalaza gasnih analiza u krvi (hipoksemiju, poremećen odnos ventilacije i perfuzije, nizak indeks perfuzije). Etiologija opisanih plućnih promena nije do kraja objašnjena i istraživači su ostavili mogućnost da bi uzrok njihovog nastanka mogao biti povezan sa hroničnom aspiracijom. Poznato je da GER i hronična encefalopatija predstavljaju jasan faktor rizik za hroničnu aspiraciju kod osoba sa hendikepom (Sullivan, 2008), a ovi faktori su prisutni kod velikog broja pacijenata sa RTT (Motil i sar, 2012).

Smatra se da niska ekspresija proteina MeCP2 u neuronskim ćelijama moždanog stabla predstavlja molekularni supstrat nezrelosti ovih struktura koji rezultira u poremećajima rane faze spavanja: teškoćama pri uspavljanju, noćnom buđenju i bruksizmu. Polisomnografske studije su pokazale da deca sa RTT imaju povećanu pojavu hipopneje i apneje tokom

spavanja, te noćnog buđenja, kao i nižu prosečnu saturaciju oksihemoglobina tokom spavanja u poređenju sa zdravom decom (Carotenuto i sar, 2013).

#### **I.6.6. Kardiološke manifestacije RTT**

Bolesnici sa Retovim sindromom imaju skraćen životni vek i povećan rizik za naglu smrt. Čak 26% od ukupnog broja umrlih sa RTT su imali nagli smrtni ishod što je 10-struko više nego u opštoj populaciji (Kerr i sar, 1997). Mogući uzroci nagle smrti u RTT su poremećaj autonomnih funkcija moždanog stabla ali se opisuju i slučajevi srčanih aritmija zbog promena u sprovodnom sistemu srca u sklopu osnovne bolesti (Kearney i sar, 1997). Ovi istraživači su proučavali histološku građu sprovodnog sistema srca 6 bolesnika sa RTT koji su umrli od nagle smrti i opisali određene nezrelosti u njegovoj građi koje ukazuju na genetski determinisani zastoj u normalnom razvoju. Ehokardiografske studije su pokazale normalan nalaz kod devojčica sa RTT isključujući mogućnost kardiomiopatije ili valvulopatije (Guideri i sar, 2004). Elektrokardiografska ispitivanja, s druge strane, pokazala su da je produženje QT intervala čest nalaz kod RTT (Sekul i sar, 1994). Produžen QT interval je poznat faktor rizika za nastanak po život opasnih srčanih disritmija (Meyer i sar, 2003).

Sekul i saradnici su 1994. prvi ukazali na poremećaj ventrikularne repolarizacije u RTT, nakon što su uočili produžen QT interval kod 41,2% ispitanih pacijentkinja. Produženje QT je bilo izraženije u kasnijim stadijumima bolesti. Takođe, utvrđene su i nespecifične promene T talasa kod većine pacijentkinja, kao i druge EKG promene kod manjeg broja. Prolongaciju QT intervala kod RTT potvrdile su brojne kasnije studije (Guideri i sar 2001; Ellaway 1999). Patogeneza prolongiranog QT još uvek nije poznata ali se pretpostavlja da potiče od disbalansa simpatičke aktivnosti. Takođe, postoje indicije i da nizak nivo neutrofnih faktora rasta koji je prisutan kod RTT može izazvati poremećaj u inervaciji srca što vodi u produžen QT interval i sklonost opasnim aritmijama (Guideri i sar, 2004).

Jedna od glavnih odlika Retovog sindroma su autonomni poremećaji. Srčana disautonomija ima ulogu u patogenezi potencijalno letalnih ventrikularnih aritmija (Acampa i sar, 2006). Naime, simpatička stimulacija snižava prag za nastanak ventrikularne fibrilacije, dok vagalna stimulacija podiže ovaj prag. Varijabilnost srčane frekvencije je proučavana kod RTT kao parametar autonomne regulacije srčanog rada i opisane su abnormalnosti ovog parametra: spektar varijabilnosti je bio nizak a simpatovagalni balans poremećen u korist



simpatikusa (Guideri i sar, 2001). Ovi rezultati sugerišu da gubitak fiziološke varijabilnosti srčane frekvencije udružen sa povišenim adrenergičkim tonusom i već postojećom prolongacijom QT intervala, predstavlja verovatnu elektrofiziološku osnovu za nastanak aritmije i nagle srčane smrti. Pitanje porekla srčane disautonomije kod RTT nije u potpunosti razjašnjeno. Smatra se da poremećaj integrativnih funkcija moždanog stabla (kardijalni vagalni tonus, ritam disanja, srčana senzitivnost na barorefleksni podsticaj) ima ključnu ulogu u RTT.

S obzirom da nagle srčane komplikacije značajno doprinose mortalitetu kod RTT, razmatrane su mogućnosti medikamentne terapije i prevencije aritmija. Beta-blokeri se za sada ne preporučuju svim pacijentima sa prolongiranim QT intervalom. Postoji, međutim, preporuka da pacijenti sa RTT treba da izbegavaju lekove koji produžuju QT interval kao što su npr. cisaprid, neki antipsihotici, triciklični antidepresivi, pojedini antibiotici (eritromicin, ketokonazol). Lečenje serotonineričkim analozima ili inhibitorima preuzimanja serotonina moglo bi popraviti simpatovagalnu ravnotežu koja je narušena kod RTT. Postoji mogućnost uspeha u primeni ovih lekova, ali prvenstveno kada se radi o dejstvu na respiratornu funkciju (Acampa i sar, 2006). Guideri i sar su 2005. opisali pozitivne efekte primene acetyl-L-karnitina na srčanu disautonomiju kod RTT. Da bi se došlo do jasnih preporuka za prevenciju i lečenje srčanih komplikacija planirane su velike kliničke studije u bliskoj budućnosti.

Novija ehokardiografska istraživanja ukazuju na prethodno neprepoznatu miokardijalnu disfunkciju kod dece sa RTT. Naime, parametri biventrikularne funkcije kao što su sistolna ekskurzija trikuspidne i mitralne anularne ravni bila je značajno snižena kod dece sa RTT u odnosu na zdrave kontrole. Radi se o subkliničkom poremećaju koji je prisutan kod RTT pacijenata bez obzira da se li se radi o tipičnoj ili atipičnim formama (De Felice i sar, 2012).

### **I.6.7. Gastroenterološki i nutritivni poremećaji u Retovom sindromu**

Iako se neurološke manifestacije smatraju ključnom karakteristikom Retovog sindroma, tokom poslednjih godina se nutritivni i gastrointestinalni problemi prepoznaju kao izuzetno važan deo kliničke slike ove bolesti. Nedovoljnost linearnog rasta, neadekvatno napredovanje u telesnoj masi i smanjena gustina kostiju samo su neke od mogućih posledica lošeg nutritivnog statusa ovih pacijenata (Tarquinio i sar, 2012). Oromotorna disfunkcija,

teškoće pri gutanju, gastroezofagealni refluks (GER) i konstipacija opisuju se kao najčešće smetnje od strane digestivnog trakta (Motil i sar, 2012).

Najdetaljnija studija nutritivnog statusa i gastrointestinalnih manifestacija u Retovom sindromu izvedena je u SAD kao multicentrično istraživanje (Motil i sar, 2012). Pokazano je da deficit uhranjenosti sa uzrastom postaje sve izraženiji tako da je z skor indeksa telesne mase (ITM) opadao od ranog detinjstva (z -0,5) do najniže vrednosti u uzrastu od 20 do 29 godine (-1,5). Kod 38% pacijentkinja dijagnostikovana je pothranjenost. Simptomi gastrointestinalnog dismotiliteta i teškoće pri ishrani ustanovljene su kod većine ispitivanog uzorka devojčica sa RTT sindromom. Gastrointestinalne probleme je imalo čak 92% bolesnica a predominirali su konstipacija (80%), grčevi u trbuhu (69%) i GER (39%). Teškoće u ishrani bile su prisutne kod 81% bolesnica a najčešće se radilo o vremenski dugim pojedinačnim obrocima (62%) i teškoćama pri žvakanju hrane (56%). Holecistitisa i bilijarna diskinezija bili su izuzetno retki u ovoj grupi. Najčešće korišćeni lekovi za gastrointestinalne poremećaje kod RTT su bili laksativi i inhibitori protonske pumpe. Oko četvrtina pacijenata je imala ugradnju perkutane gastrostome u cilju bolje nutritivne potpore. Zaključeno je da su GER, teškoće pri žvakanju i zagrcavanje pri hranjenju učestalije u mlađoj populaciji RTT pacijentkinja, dok su neuhranjenost, nizak mineralni sastav kostiju, frakture i potreba za plasiranjem perkutane gastrostome značajno prevalentniji u starijem uzrastu. Takođe, pokazano je da pacijentkinje kod kojih je bila prisutna mutacija u MECP2 genu imale su veći rizik za nizak rast nego u grupi sa odsutnom mutacijom.

Prema rezultatima brazilske studije nutritivnih aspekata RTT, samo 3,7% devojčica je bilo u stanju da se samostalno hrani. Kod 84,6% su bili prisutni poremećaj žvakanja i teškoće pri gutanju, a čvrstu hranu nije moglo da unese 80,8% obolelih. Nizak rast je bio prisutan kod 48,1%, a pothranjenost kod 27,3%, dok je 9,1% imalo prekomernu telesnu težinu. Kod 74,1% je bila prisutna konstipacija. (Schwartzman i sar, 2008).

Neke od opisanih gastrointestinalnih i nutritivnih tegoba sreću se i kod dece sa drugim poremećajima iz spektra autizma, ali je zastupljenost konstipacije kod RTT statistički značajno više prisutna nego kod sličnih razvojnih poremećaja (Ibrahim i sar, 2009). Konstipacija je prevalentna među osobama sa RTT i drugim hroničnim encefalopatskim poremećajima i značajno može da umanjati kvalitet života bolesnika. Kod osoba sa RTT konstipacija je posledica sedentarnog načina života, nedovoljnog unosa hrane a može biti

potencirana i upotrebom određenih lekova. Kod bolesnika sa RTT postoji veća tolerancija za unos tečne i kašaste hrane u odnosu na čvrstu, s obzirom da je žvakanje poremećeno u većoj meri nego akt gutanja. Škr gutanje zubima, nevoljni pokreti jezikom i neefikasno žvakanje doprinose otežanom žvakanju, dok hipersalivacija i hiperventilacija mogu dodatno negativno uticati na proces hranjenja (Motil i sar, 2009; Motil i sar, 2013).

Nizak rast i smanjena mineralizacija kostiju deo su prirodnog toka RTT (Huppke i sar, 2001; Shapiro i sar, 2010; Tarquinio i sar, 2012). Neadekvatan telesni rast i razvoj u RTT najverovatnije nastaje kao posledica udruženog delovanja mutacije, nutritivnih faktora i povećane potrošnje energije (usled konvulzija, nevoljnih pokreta i sl.). Visoka prevalencija osteopenije i osteoporoze u RTT takođe se može povezati kako sa inherentnom genetičkom osnovom tako i sa nutritivnom nedostatnošću.

Istraživanje koje je uporedilo nutritivne i gastroenterološke probleme između RTT i drugih neurorazvojnih poremećaja pokazalo je da oboleli od RTT imaju manju telesnu masu, više tegoba sa gutanjem i manju zastupljenost samostalnog hranjenja u poređenju sa kontrolama (Isaacs i sar, 2003). Ista studija ukazuje na potencijalne negativne efekte antikonvulzivne terapije i opstipacije na apetit.

Pored konstipacije, gastroezofagealni refluks (GER) je jedan od najčešćih gastrointestinalnih poremećaja prisutnih kod dece sa neurorazvojnim poremećajima, pa tako i kod RTT (Sullivan, 2008; Motil i sar, 2012). Hronični peptički ezofagitis koji nastaje kao posledica GER može voditi u nastanak mukoznih ulceracija i formiranje strikture. Kod RTT postoji smanjena osetljivost na bol što, udruženo sa poremećajem u komunikabilnosti, dovodi do neprepoznavanja ili kasnog prepoznavanja prisustva GER-a. Nelagodnost izazvana peptičkim ezofagitisom može biti uzrok hronične razdražljivosti, napada plača, pa čak i distoničnih pokreta lica i vrata. Kod dece sa motornim hendikepom, povraćanje je glavni znak GER i javlja se u 80% slučajeva. Kod dece sa neurološkim oštećenjem refleks kašljanja je često nedovoljno efikasan, a česti deformiteti grudnog koša (npr. skolioza kod RTT) dodatno povećavaju rizik za morbiditet i mortalitet od respiratornih infekcija iniciranih aspiracijom.

Nedakvetan rast je jedna od glavnih karakteristika Retovog sindroma. Ipak, tek od skora se pokušava sa razvijanjem tablice rasta specifičnih za RTT (Tarquinio i sar, 2012). U okviru patofiziološkog kompleksa koji dovodi do nedovoljnog telesnog rasta kod ove bolesti, postoji nekoliko ključnih elemenata: genetska osnova (mutacija u MECP2 genu),

orofaringealna disfunkcija, gastrointestinalne smetnje, skolioza, osteopenija, konvulzivni napadi i antikonvulzivna terapija.

Težina i dužina na rođenju kod RTT ne razlikuju se od opšte populacije. Kod adultnih pacijenata sa RTT, visina, težina, indeks telesne mase i obim glave su manji nego kod opšte populacije. Trajektorija porasta telesne mase kod dece sa klasičnim RTT je bila ispod standarda za uzrast već u veoma ranoj dobi od 6 meseci. Do 18. godine, čak 71% ispitanica je ispod 2 percentila za telesnu masu. Što se tiče visine, značajno odstupanje od normalne brzine linearnog rasta bilo je uočljivo već sa godinu i po dana meseci, a u uzrastu od 18 godina preko 80% pacijentkinja je ispod drugog percentila za visinu. Trend porasta indeksa telesne mase je manje poremećen nego za druge antropometrijske karakteristike, pa je u uzrastu od 20 godina prosečno iznosio 20, što se nije značajno razlikovalo od žena iste dobi. Ipak, distribucija pacijentkinja je bila široka i oko trećine ima indeks telesne mase u opsegu pothranjenosti, dok se u ređim slučajevima susreće prekomerna telesne mase (Schultz i sar, 1993; Huppke i sar, 2001; Tarquinio i sar, 2012; Motil i sar, 2012).

#### **I.6.8. Koštane manifestacije Retovog sindroma**

Najvažniji koštani poremećaji u Retovom sindromu su skolioza, smanjena gustina kostiju (osteopenija i osteoporozna) i frakture (Neul i sar, 2010; Smeets i sar, 2012; Downs i sar, 2008). Skolioza je do sada najbolje dokumentovan koštani poremećaj u RTT. Podaci iz australijskog registra RTT bolesnika pokazuju da je skolioza prisutna kod 79% bolesnika mlađih od 13 godina (Ager i sar, 2006). Ista grupa istraživača ukazuje da se skolioza razvijala u kasnijem uzrastu kod bolesnika sa mutacijama R133C, R294X, R306C i R294X. Prevalencija skolioze se u brojnim istraživanjima kreće između 58% i 87% (Stokland i sar, 1993; Colvin i sar, 2003). Asocijaciju skolioze sa nesposobnošću hoda opisuju navedene studije švedskih i australijskih istraživača.

Podaci skorije multicentrične studije izvedene u SAD pokazuju da je skolioza prisutna kod 85% bolesnika sa RTT (Percy i sar, 2011). Najvišu prevalenciju skolioze opisali su kod bolesnika sa C-terminalnim delecijama MECP2 gena, a najnižu kod nosilaca R133C mutacije i potvrdili povezanost skolioze sa nepokretnošću obolelih od RTT.

Prvi izveštaji o smanjenoj gustini kostiju u ovoj bolesti su se pojavili sredinom devedesetih godina prošlog veka (Haas i sar, 1997; Leonard i sar, 1999), a potom je došlo do značajnog povećanja istraživanja ovog aspekta RTT (Motil i sar, 2008; Shapiro i sar, 2010).

Sve studije su pokazale da devojčice i žene sa RTT imaju značajno veću prevalenciju fraktura u odnosu na opštu populaciju (Downs i sar, 2008; Roende i sar, 2011). Epilepsija i upotreba antiepileptičkih lekova, smanjena pokretljivost i određene mutacije u MECP2 genu su identifikovane kao faktori rizika za patološke frakture u RTT (Downs i sar, 2008). Veoma rana pojava osteopenije i histomorfometrijska proučavanja kostiju sugerisali su da bi genetski mehanizam mogao biti ključan u patogenezi koštanih poremećaja u RTT (Budden i sar, 2003). Ipak, etiologija osteopenije i osteoporoze, a time i patoloških fraktura za sada nije u potpunosti razjašnjena.

Nekoliko istraživanja je istraživalo moguću ulogu deficijencije vitamina D na pojavu koštanih poremećaja kod pacijenata sa RTT (Gonnelli i sar, 2008; Motil i sar, 2011). Utvrđeno je da je kod osoba obolelih od RTT prisutna povećana prevalencija deficijencije vitamina D. Nizak nivo vitamina u krvi je od ranije poznat faktor rizika za osteoporozu i patološke frakture, kako kod dece, tako i kod odraslih osoba. Pored uticaja na homeostazu koštano-zglobnog sistema, adekvatan nivo vitamina D ima brojne druge povoljne efekte na zdravlje, kao što su npr. stanje imunskog sistema i kontraktilnost mišića (Hewison i sar, 2010; Rejnmark i sar, 2011).

### **I.7. Kvalitet života roditelja koji se staraju o deci sa Retovim sindromom**

S obzirom da je Retov sindrom udružen sa teškim kliničkim manifestacijama kao što su psihomotorna regresija, autističko ponašanje, stereotipni pokreti, gubitak svrsishodnih pokreta šake, redukcija ili potpuni gubitak govora, epilepsija i skraćen životni vek, jasno je da bolest ostvaruje izvestan uticaj na kvalitet života roditelja (staratelja) ove dece. Ipak, RTT ima širok spektar ispoljavanja koji zavisi od genetske osnove ali i drugih faktora (kao što je npr. dostupnost multidisciplinarnog lečenja) (Bebbington i sar, 2008; Motil i sar, 2009). Otežavajući faktor za roditelje dece sa RTT je i saznanje da još uvek nije razvijena specifična terapija koja bi zaustavila regresiju kod ovih devojčica, tako da je tretman za sada prvenstveno simptomatski i fokusiran na optimizaciju preostalih sposobnosti bolesnika (govora, kretanja, upotrebe ruke). Visok udeo pacijenata sa RTT ima epilepsiju koja je često teška i zahteva upotrebu antiepileptičke politerapije (Glaze i sar, 2010).

Istraživanja u različitim delovima sveta su pokazala da su majke koje brinu o deci sa mentalnim i motornim hendikepom sklonije depresiji i nižem kvalitetu života vezanom za

zdravlje (*health related quality of life* – HRQoL) u odnosu na žene u opštoj populaciji (Breslau i sar, 1982; Blacher i sar, 1997; Brehaut i sar, 2004, Bourke i sar, 2008). Utvrđeno je da pored samih karakteristika dečje bolesti, i određeni sociodemografski faktori (prihodi porodice, bračni status, godine majke i dr.) takođe imaju uticaj na ishodne varijable (HRQoL i stepen depresije) (Mobarak i sar, 2000; Manuel i sar, 2003). Iako je Retov sindrom panetnički distribuiran i predstavlja model bolesti sa motorno-mentalnim hendikepom, istraživanja kvaliteta života i socijalno-medicinskog aspekta bolesti nisu brojna (Moore, 2005; Laurvick i sar, 2006; Bahi-Buisson i sar 2008). Najveća studija HRQoL kod roditelja dece sa RTT sprovedena je u Australiji i pokazuje da su se najteže pogođeni domeni kvaliteta života odnosili na mentalni aspekt HRQoL (ukupni mentalni skor je bio nizak). Ista studija ukazuje na negativan uticaj niskih porodičnih prihoda i težine bihevioralnih poremećaja bolesnika sa RTT na kvalitet života njihovih roditelja (Laurvick i sar, 2006). Francuska studija naglašava uticaj epilepsije kod dece sa RTT na kvalitet života njihovih roditelja (Bahi-Buisson i sar, 2008).

## II CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi ovog istraživanja uključuju procene:

- 1) Incidencije i prevalencije Retovog sindroma u Srbiji u periodu od 1987. do 2011. godine;
- 2) Stope preživljavanja dece obolele od Retovog sindroma u Srbiji;
- 3) Genotipsko-fenotipske korelacije u populaciji dece sa Retovim sindromom u našoj populaciji;
- 4) Učestalosti pojedinih kliničkih oblika Retovog sindroma u Srbiji, te deskripciju drugih značajnih kliničko-epidemioloških podataka u ovoj populaciji (vreme početka bolesti, komorbiditet, komplikacije, broj hospitalizacija i složenost primenjenih procedura);
- 5) Prognostičkog značaja odabranih demografskih, kliničkih i genetičkih varijabli u dece sa Retovim sindromom;
- 6) Depresivnosti i kvaliteta života u majki koje se staraju o deci sa Retovim sindromom u Srbiji.

### III METODI ISTRAŽIVANJA

Retrospektivna studija je obuhvatila sve bolesnike sa Retovim sindromom koji su u periodu od 1987. do 2011. godine lečeni i kontrolisani u Odeljenju za dečju neurologiju Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije »Dr Vukan Čupić« (u daljem tekstu Institut). Institut je referentna ustanova za Retov sindrom u našoj zemlji i jedina iz Srbije koja participira u Evropskom registru za Retov sindrom (EuroRett). U cilju što sveobuhvatnijeg sagledavanja broja bolesnika za procenu epidemioloških aspekata Retovog sindroma, podaci o svim bolesnicama kod kojih je postavljena molekularna dijagnoza u našoj zemlji su dobijeni od Genetske laboratorije Biološkog fakulteta u Beogradu. Radi se o laboratoriji koja sprovodi molekularnu dijagnostiku Retovog sindroma u našoj zemlji za pacijente iz svih zdravstvenih ustanova. Prikupljena je grupa od 102 bolesnika kod kojih je dijagnoza Retovog sindroma postavljena od 1987. do 2011. godine. U studiju su uključeni svi pacijenti sa dijagnozom Retovog sindroma bez obzira da li je u međuvremenu došlo do smrtnog ishoda. Dijagnoza Retovog sindroma bazirana je na važećem međunarodnom konsenzusu o kliničkim kriterijumima (Neul i sar, 2010). Svi ispitanici u našoj studiji bili su ženskog pola s obzirom da u Srbiji nije bilo muške dece kod koje je postavljena dijagnoza Retovog sindroma.

Za svakog bolesnika u studiji prikupljeni su demografski i klinički podaci, te podaci o tome da li su testirani na mutacije u MECP2 genu (i drugim genima koji ređe izazivaju Retov sindrom). Težina kliničke slike utvrđena je na osnovu međunarodno prihvaćenog skora težine bolesti specifično razvojenog za ovu bolest (Klinički skor težine bolesti - *Clinical Severity Score*, CSS) (Neul i sar, 2008). Ovaj parametar predstavlja kompozitni skor baziran na 13 kategorija koji mere težinu ispoljavanja različitih kliničkih manifestacija Retovog sindroma. Svaka pojedinačna kategorija se ocenjuje od 0 do 4, od 1 do 5 ili od 0 do 5 poena, s tim da, u zavisnosti od pitanja, 0 ili 1 odgovaraju najmanje teškom, a 4 ili 5 najtežem ispoljavanju određene kliničke manifestacije. Vrednost ukupnog CSS skora varira od 0 to 58. Skor CSS procenjuje specijalista dečje neurologije.



Za svakog bolesnika sa Retovim sindromom utvrđen je klinički tip bolesti (klasični ili atipični Retov sindrom), a u okviru analize ishoda bolesti u trenutku studije je analizirano:

- 1) da li je pacijent živ/umro (uzrok smrti)
- 2) u kom stadijumu bolesti se nalazi (I, II, III ili IV)
- 3) stepen telesnog oštećenja/težine bolesti (CSS, IQ, stepen pokretnosti)

Studijom su bile obuhvaćene sledeće varijable:

A) *Demografski podaci:*

- Pol deteta
- Uzrast
- Mesto stanovanja (selo/grad)
- Podaci o uzroku i uzrastu eventualnog smrtnog ishoda

B) *Kliničke i genetičke karakteristike bolesti:*

- Uzrast u vreme ispoljavanja prvih znakova bolesti
- Uzrast u vreme postavljanja dijagnoze bolesti na osnovu kliničkih kriterijuma
- Skor kliničke težine bolesti (Clinical Severity Score)
- Stadijum bolesti
- Prisustvo poremećaja ranog razvoja (tokom prvih šest meseci)
- Uzrast pojave stereotipnih pokreta ruku
- Postojanje respiratornih manifestacija Retovog sindroma
- Postojanje gastroenteroloških manifestacija Retovog sindroma
- Podaci o obimu glave, telesnoj visini i z skorom indeksu telesne mase
- Postojanje skeletnih manifestacija bolesti (osteoporoza, frakture, skolioza, status vitamina D u krvi)
- Koeficijent inteligencije/razvojni količnik
- Postojanje i tip epilepsije
- Uzrast početka epilepsije
- Upotreba redovne medikamentne terapije (broj i vrsta lekova)

- Genetička mutacija odgovorna za nastanak Retovog sindroma kod pacijenata za koje je ova analiza bila dostupna

D) *Porodična pokazatelji koji će biti korišćeni i u analizi kvaliteta života i depresivnosti majki koje se brinu o deci oboleloj od Retovog sindroma:*

- Godine majke
- Obrazovni nivo majke
- Profesija majke
- Mesečni prihodi domaćinstva
- Bračni status

E) *Kvalitet života i depresivnost majki koje se staraju o deci oboleloj od Retovog sindroma:*

- Rezultati popunjavanja SF-36 upitnika za kvalitet života
- Rezultati popunjavanja Bekove skale depresije II (BDI – II)

Izračunavanje z-skorova za indeks telesne mase i percentila za obim glave i telesnu visinu prema polu i uzrastu je učinjeno prema tablicama Centra za kontrolu bolesti iz Atlante, SAD (Center for Disease Control - CDC) iz 2000. godine.

Genetičke procedure korišćene i identifikaciji mutacija u MECP2 genu kod naših pacijenata je bilo sprovedeno molekularnim metodama koji su opisani u radu Djarmati i saradnika (2007.) o genetičkom profilu MECP2 mutacija kod pacijentkinja sa Retovim sindromom u Srbiji.

Obavljen je retrospektivni uvid u analize pokazatelja koštane funkcije koje su bile tokom perioda praćenja bile učinjene kod 35 bolesnika. Serumska koncentracija 25-hidroksivitamina D (25(OH)D) je određivana enzimskim imunosorbentnim esejem (ELISA, DRG Diagnostics GmbH, Germany) na principu kompetitivnog vezivanja. Na bazi aktuelnih preporuka, uzeto je da koncentracija 25(OH)D u serumu od 50-75 nmol/L označava insuficijenciju vitamina D, 25(OH)D <50 nmol/L je smatran deficijencijom, koncentracija <25 nmol/L je uzimana kao teška deficijencija. Intra- i interesejski koeficijent varijacije za 25(OH)D u našoj laboratoriji iznosili su 4,4%, odnosno 8,6%. Enzimskim imunosorbentnim esejem ("two-site" metod, ELISA) je kvantitativno utvrđen nivo biološki intaktnog PTH sa lancem od 84 aminokiseline (Biomerica, USA). Intra- i interesejski koeficijent varijacije za PTH u našoj laboratoriji

iznosili su 3,1%, odnosno 4,0%. Rezultati analiza nivoa serumskog 25(OH)D i PTH bolesnica sa RTT su upoređeni sa kontrolnom grupom od 35 bolesnica sa drugim neurološkim oboljenjima odgovarajućeg uzrasta, kojima su analize na 25(OH)D i PTH učinjene u istom delu godine (jesen).

#### Statistička analiza podataka

Izračunavanje incidencije i prevalencije je utvrđeno na osnovu publikacija Republičkog zavoda za statistiku Srbije (Demografska statistika, godišnjaci, 1981.-2011.). Statistička analiza podataka obuhvatila je metode deskriptivne statistike (određivanje srednjih vrednosti, medijane, standardne devijacije, interkvartilnog opsega - IQR), t-test,  $\chi^2$  test, ANOVA test, analizu preživljavanja po Kaplan-Meyeru, korelacionu i regresionu analizu. Svi parametri su bili izračunati na nivou celokupne bolesničke populacije, kao i u odnosu na podgrupe bolesnika sa različitim tipovima Retovog sindroma. Izračunavanja genotipsko-fenotipske korelacije sprovedena su na subkohorti pacijenata kod koje je sprovedena analiza u MECP2 genu ili drugim genima koji mogu uzrokovati Retov sindrom. Subkohorta od 88 bolesnika sa kompletnim kliničkim podacima je korišćena za najprecizniju procenu kliničkih parametara Retovog sindroma.

Verovatnoća preživljavanja za celu populaciju obolelih, kao i za podgrupe prema odabranim karakteristikama, određivani su Kaplan-Meyerovom metodom, uz korišćenje log-rank testa (modifikovani  $\chi^2$  test) za međusobna poređenja. Kao ishodne varijable korišćene su različite varijable: smrtni ishod, IQ skor, CSS skor, pojava epilepsije, stanje pokretnosti, stanje uhranjenosti i dr. Kada se kao ishodna varijabla uzme smrtni ishod, celokupno trajanje bolesti biće uzeto kao vreme praćenja. U proceni prognoze Retovog sindroma biće korišćena i medijana preživljavanja sa korespondirajućim 95% intervalima poverenja.

Prediktivna vrednost ispitivanih varijabli, odnosno njihov značaj za prognozu bolesti biće određen univarijantnom i multivarijantnom regresionom analizom. Sve varijable za koje je univarijantnom regresionom analizom dobijena statistička značajnost na nivou 0,05 su bile uključivane u multivarijantne modele prema različitim kriterijumima.

#### Metodologija ispitivanja kvaliteta života i depresivnost majki koje se staraju o deci sa Retovim sindromom

Ispitivanje je kvaliteta života vezanog za zdravlje (HRQoL) i depresivnosti je obuhvatilo 49 majki dece sa Retovim sindromom u Srbiji. Studija je sprovedena u Institutu za

zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije u Beogradu pomoću upitnika SF-36, Beckove skale depresije i upitnika o sociodemografskim podacima koji su poslani majkama dece sa RTT. Upitnici su upućeni ukupnom broju od 60 majki, a popunjeni i vraćeni su od strane 49 majki. Kriterijum za uključivanje u ispitivanje je bio da je kod deteta postavljena dijagnoza RTT na bazi važećeg međunarodnog konsenzusa o dijagnostičkim kriterijuma (Neul i sar, 2010), te da dete živi sa porodicom. Majke sa dijagnozom teškog zdravstvenog (somatskog ili psihijatrijskog) oboljenja su isključene iz studje. Sociodemografski upitnik je obuhvatio pitanja o godinama majke, bračnom statusu, obrazovnom nivou, statusu zaposlenosti, porodičnim prihodima (da li su prihodi iznad ili ispod proseka za Republiku Srbiju) i mesto stanovanja (urbana sredina ili ruralna sredina) Srpski prevod upitnika SF-36, generičkog HRQoL instrumenta, je korišćen u ispitivanju kvaliteta života povezanog sa zdravljem (Drulović i Pekmezović, 2007). Upitnik SF-36 meri osam domena HRQoL izražavajući rezultat u skalama fizičkog funkcionisanja (physical functioning - PF), fizičke uloge (role functioning physical - RP), telesnog bola (bodily pain - BP), opšteg zdravlja (general health - GH), vitalnosti (vitality - VT), socijalnog funkcionisanja (social functioning - SF), emocionalne uloge (role functioning emotional - RE), i mentalnog zdravlja (mental health - MH). Domeni SF-36 služe za izračunavanje zbirnih (kompozitnih) skorova – zbirnog skora fizičkog zdravlja (physical health composite score - PCS) i zbirnog skora mentalnog zdravlja (mental health composite score – MCS), kao i ukupnog SF-36 zbirnog skora (total composite score - TCS). Skor PCS se računa kao prosečna vrednost skorova PF, RP, BP, GH i VT domena. Skor MCS se računa na bazi 5 domena: VT, SF, RE, MH i GH. Skorovanje rezultata SF-36 upitnika se odvija na skali od 0 do 100; nula predstavlja najniži mogući skor, a 100 najviši mogući skor. U opštoj populaciji, uzetoj kao normativna referentna vrednost, 50 predstavlja srednji skor. Skale HRQoL su predstavljene pomoću T-skorova (srednji 50, SD 10) postupkom linearne transformacije sirovih skorova što optimizuje upoređivanje između različitih skala SF-36. Više vrednosti označavaju bolje stanje kvaliteta života u određenom domenu. Skorovanje i računanje vrednosti SF-36 skala je izvedeno prema preporukama Srpska verzija prevoda Bekove skale depresije – II (Beck Depression Inventory - II (BDI-II)) je korišćena u istraživanju depresije. Skorovi BDI-II od 0-13 su smatrani minimalnom depresijom, 14-20 blagom, 20-28 umerenom i 29-63 teškom depresijom (Beck i sar, 1996). Popunjeni upitnici su dobijeni od 49 majki što je činilo stopu odgovora od 81,7%. Pearsonov

koeficijent korelacije je korišćen kako bi se utvrdio odnos između domena SF-36 u odnosu na rezultate BDI-II, CSS i godina majke dece sa RTT. Korišćen je t-test u poređenju vrednosti SF-36 domena, pojedinačnih, kompozitnih i ukupnog, sa normama za opštu populaciju. Ispitivanje razlike u rezultatima SF-36 skorova i BDI-II skora između grupa majki koje brinu o deci sa blažom kliničkom slikom ( $CSS \leq 20$ ) i majki koje brinu o teže bolesnoj deci ( $CSS > 20$ ) je takođe izvedeno pomoću t-testa. Granična vrednost CSS od je korišćena s obzirom da je predstavljala medijanu vrednosti CSS u subpopulaciji pacijenata sa RTT čije smo majke ispitali. Koristili smo linearnu regresiju kako bismo ispitali uticaj sociodemografskih faktora i prisustvo epilepsije na rezultate SF-36 skorova (PCS, MCS i TCS) i BDI-II skora u našoj grupi. Obrazovni nivo majki, zaposlenost, bračni status, porodični prihod, mesto boravka (selo ili grad), broj dece u porodici i prisustvo epilepsije su bili faktori korišćeni u analizi. Nivo verovatnoće koji je smatran statistički značajnim bio je  $< 0,05$ .

## IV REZULTATI ISTRAŽIVANJA

### IV.1. Epidemiologija Retovog sindroma u Srbiji

#### IV.1.1. Incidencija Retovog sindroma u Srbiji

U periodu od 1. januara 1987. do 31.12.2012. Retov sindrom je dijagnostikovao kod 102 devojčice u Srbiji. U navedenom periodu nije bilo slučajeva RTT kod muške dece. Najstarija bolesnica u ispitivanoj grupi je stara 36 godina (prva bolesnica u koje je postavljena dijagnoza RTT u Srbiji 1987. godine), a najmlađa 36 meseci, dok je srednji uzrast iznosio  $15,29 \pm 8,15$  godina. Incidencija Retovog sindroma u Srbiji prema godinama rođenja pacijenata data je u tabeli broj IV.1, a kretanje incidencije za petogodišnje periode je dato u tabeli IV.2. Incidencija izračunata na osnovu tridesetogodišnjeg perioda za koji su postojali podaci, iznosila je 0,586:10000 živorođene ženske dece.

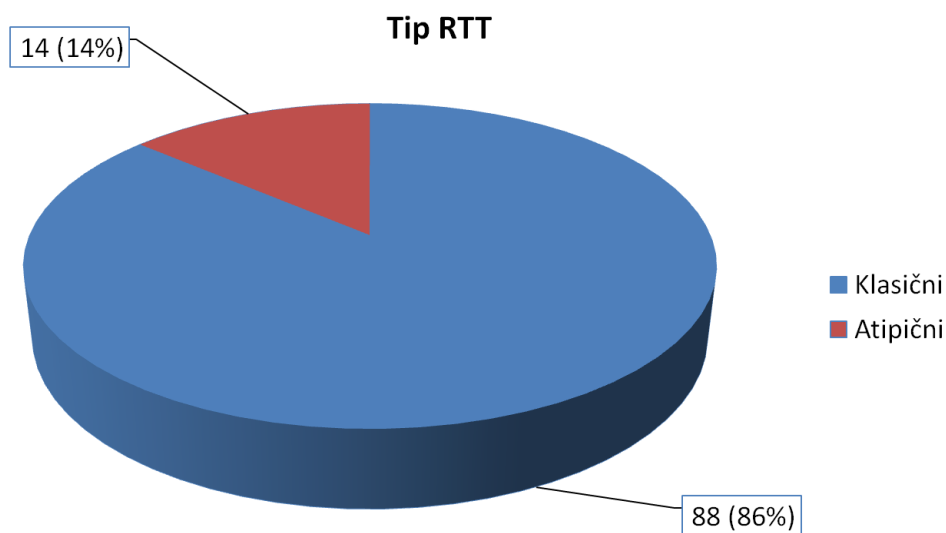
*Tabela IV.1. Incidencija Retovog sindroma u Srbiji od 1981. do 2010.*

Godina rođenja	Broj bolesnica	Broj živorođene ženske dece	Incidencija	Godina rođenja	Broj bolesnica	Broj živorođene ženske dece	Incidencija
1981	2	72857	0,28:10000	1996.	4	61820	0,65:10000
1982.	1	76769	0,13:10000	1997.	3	58931	0,51:10000
1983.	3	73644	0,41:10000	1998.	3	57530	0,52:10000
1984.	2	78359	0,26:10000	1999.	5	34789	1,44:10000
1985.	6	75227	0,79:10000	2000.	2	56049	0,36:10000
1986.	3	74271	0,4:10000	2001.	3	58377	0,51:10000
1987.	2	74149	0,27:10000	2002.	2	37885	0,53:10000
1988.	5	73644	0,68:10000	2003.	4	38221	1,05:10000
1989.	1	69738	0,14:10000	2004.	1	40344	0,25:10000
1990.	1	70021	0,14:10000	2005.	10	35022	2,85:10000
1991.	3	68671	0,44:10000	2006.	6	34398	1,74:10000
1992.	3	63318	0,47:10000	2007.	3	32879	0,91:10000
1993.	4	63259	0,63:10000	2008.	4	33275	1,2:10000
1994.	5	61819	0,81:10000	2009.	1	33849	0,30:10000
1995.	5	62807	0,79:10000	2010.	4	33323	1,2:10000

*Tabela IV.2. Incidencija Retovog sindroma u Srbiji prikazana u petogošnjim vremenskim intervalima*

Godina rođenja	Broj bolesnica	Broj živorođene ženske dece	Incidencija
1981-1985.	14	376856	0,37:10000
1986-1990.	12	361823	0,33:10000
1991-1995.	20	319874	0,63:10000
1996-2000.	17	269119	0,63:10000
2000-2005.	20	209849	0,95:10000
2006-2010.	18	167724	1,07:10000

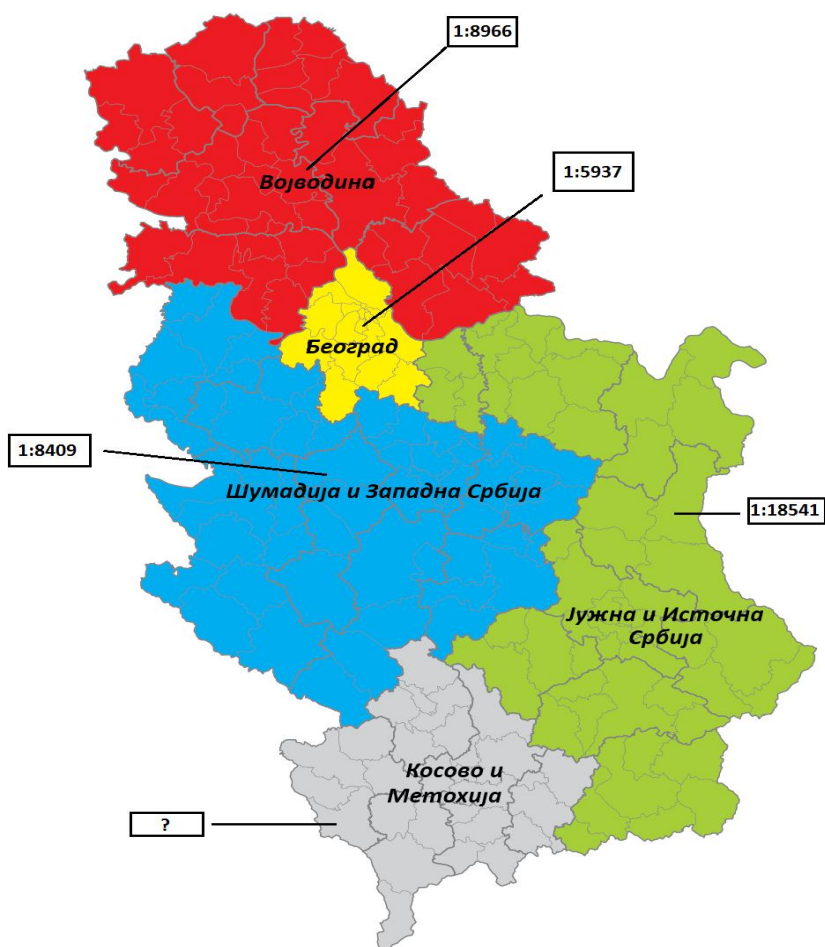
Od ukupnog broja obolelih od RTT, klasični oblik je dijagnostikovao kod 86%, a atipični oblici kod 14% bolesnica. Grafički prikaz je dat na slici IV.1.



*Slika IV.1. Učestalost klasičnog RTT i atipičnih oblika RTT u populaciji bolesnica sa RTT u Srbiji*

#### IV.1.2. Prevalencija Retovog sindroma u Srbiji

Prevalencija RTT u populaciji osoba ženskog pola od mlađih od 19 godina iznosila je 1:8349 (odnosno 1,19:10000). Dakle, 61 devojčica sa RTT uzrasta do 19 godina živi na 692816 osoba ženskog pola mlađih od 19 godina u Srbiji. Zapažene su razlike u regionalnoj prevalenciji RTT sa najvećom prevalencijom u Beogradu, dok podaci za Kosovo i Metohiju nedostaju zbog nedostupnosti tačne vitalne statistike. Grafički prikaz je dat na slici IV.2. Ako se prevalencija RTT izračuna u odnosu na sve osobe ženskog pola onda ona iznosi 0,23:10000 žena u Srbiji.



Slika IV.2. Prevalencija RTT po statističkim regionima Srbije

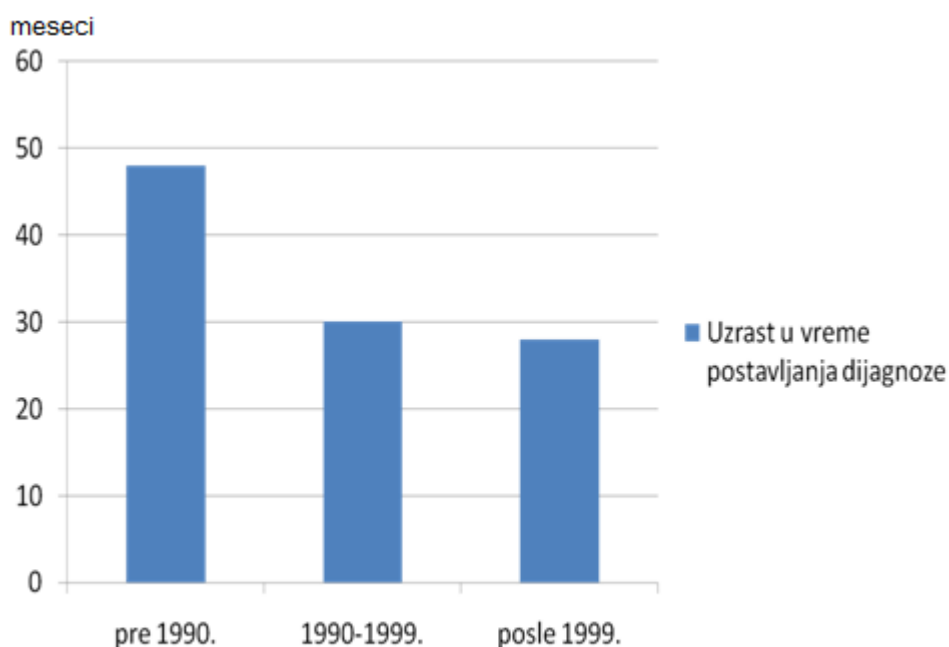


#### IV.1.3. Uzrast u vreme postavljanja dijagnoze

Srednji uzrast u kome je postavljena dijagnoza RTT kod 102 bolesnice je iznosio 37,7 meseci (SD 19,3), dok je medijana iznosila 30 meseci. Najranije je dijagnoza postavljena u 12. mesecu, a najkasnije u uzrastu od 9 godina i 4 meseca.

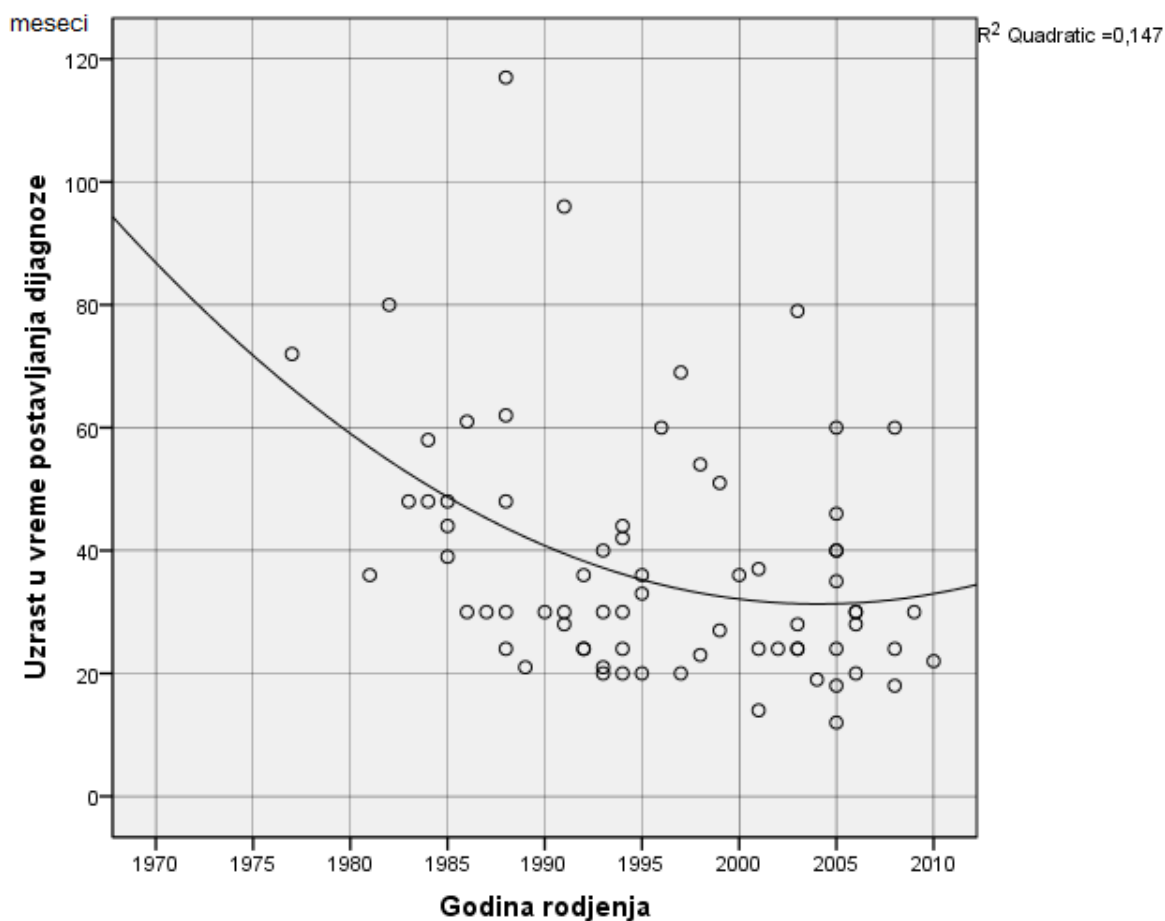
Srednji uzrast u kome je postavljena dijagnoza kod bolesnica sa klasičnim RTT je iznosila 38,7 meseci (SD 20,2), a medijana je iznosila 30 (IQR 24). Kod atipičnog RTT srednji uzrast u vreme dijagnoze je iznosio 38,4 meseci (SD 15,6), a medijana je iznosila 28,5 (IQR 21). Nije bilo statistički značajne razlike u uzrastu kada je postavljena dijagnoza kod pacijenata sa klasičnim i tipičnim Retovim sindromom.

Kod pacijenata rođenih pre 1990. godine dijagnoza je postavljena značajno kasnije nego kod pacijenata rođenih tokom 1990-tih ili posle 2000. godine (Kruskal Wallis hi 11,2, p 0,004) Slika IV.3.



*Slika IV.3. Uzrast u vreme postavljanja dijagnoze u odnosu na godinu rođenja pacijenta*

Postojala je statistički visoko značajna korelacija između godine rođenja i uzrasta u kome je postavljena dijagnoza (Pearson -0,349, p 0,003) što je grafički prikazano na slici IV.4.



Slika IV.4. Grafički prikaz korelacije između uzrasta u kome je dijagnoza RTT postavljena i kalendarske godine u kojoj su bolesnice rođene

#### IV.1.4. Genotipski profil (molekularna epidemiologija) kod bolesnica sa Retovim sindromom u Srbiji

Molekularna dijagnostika je sprovedena kod 67 bolesnica (65,7%). Od tog broja, kod 66 su analizirane mutacije u MECP2 genu, dok je kod jednog pacijenta sa atipičnim RTT sprovedena dijagnostika u CDKL5 genu i mutacija je dokazana. Od 66 bolesnica testiranih na promene u MECP2 genu, patološka mutacija je dokazana kod 52 bolesnica (78,8%). Opisano

je 26 različitih mutacija kod 52 pacijenta. Najčešće mutacije u srpskoj populaciji bolesnica sa Retovim sindromom su date u tabeli IV.3.

*Tabela IV.3. Najčešće mutacije u MECP2 genu otkrivene kod bolesnica sa Retovim sindromom u Srbiji*

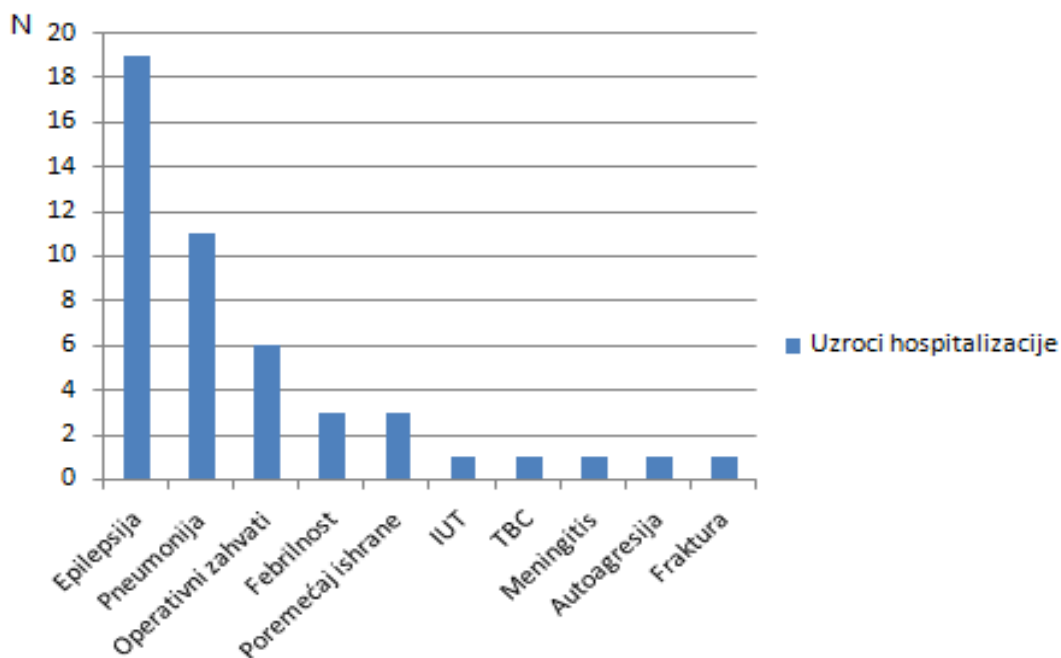
Mutacija	Proporcija bolesnica sa mutacijom (%)
T158M	6/52 (11,5%)
R255X	6/52 (11,5%)
R168X	5/52 (9,6%)
R294X	4/52 (7,6%)
R133C	3/52 (5,8%)
R306C	3/52 (5,8%)
R270X	3/52 (5,8%)
C-terminalne mutacije	3/52 (5,8%)
Delecije	3/52 (5,8%)

Najčešće mutacije u MECP2 genu među ispitivanim bolesnicama bile su T158M i R255X a potom je sledila mutacija R168X. Osam mutacija koje se u literaturi opisuju kao najčešće mutacije u MECP2 genu kod Retovog sindroma (R106W, R133C, T158M, R168X, R255X, R270X, R294X, R306C), otkrivene su kod ukupno 57,7% bolesnica sa dokazanom MECP2 mutacijom.

#### IV.1.5. Uzroci hospitalizacije i smrtnosti

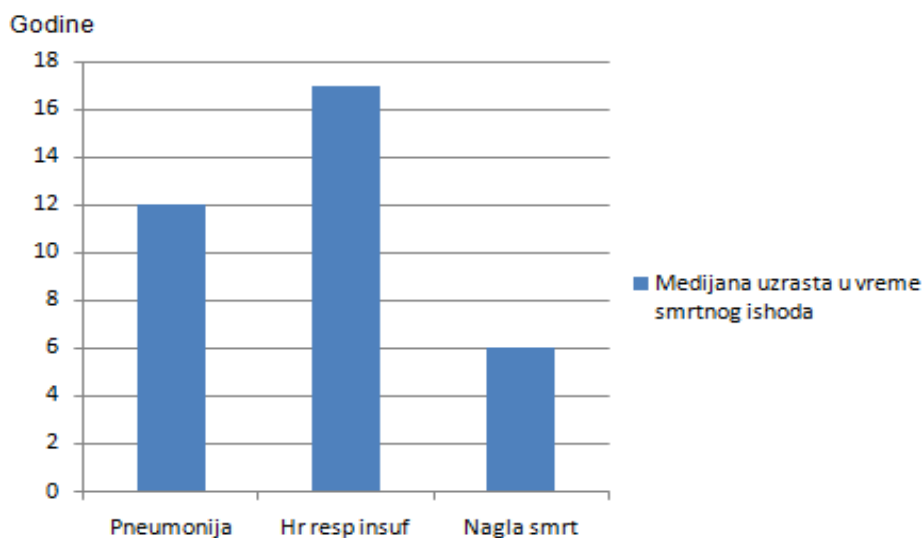
Uzroci hospitalizacije ispitivani su u podgrupi od 88 bolesnica za koje smo imali detaljne kliničke podatke o toku bolesti. Iz analize su isključene hospitalizacije sprovedene zbog dijagnostičkog ispitivanja ili radi reevaluacije dijagnoze. Najčešći uzrok neelektivnih hospitalizacije naših bolesnica sa RTT je bila epilepsija (10 puta zbog epileptičkog statusa, a 9 puta zbog povećanja učestalosti napada). Drugi uzrok po učestalosti za hospitalizaciju ovih bolesnica bila je pneumonija, a potom slede hospitalizacije radi operativnih zahvata

(ortopedskih ili stomatoloških), kao i usled infekcija različitih lokalizacija (Slika 4).



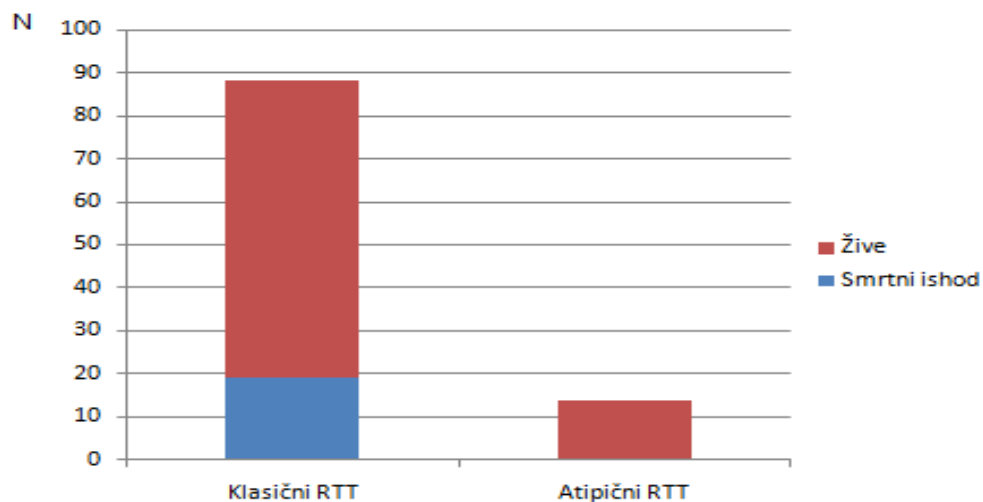
Slika IV.5. Uzroci hospitalizacije kod bolesnica sa RTT (IUT – infekcija urinarnog trakta, TBC – tuberkuloza)

U grupi od 102 bolesnice, smrtni ishod se dogodio kod 19 (18,63%). Srednji uzrast u kome je došlo do smrtnog ishoda iznosio je 13,95 godina (SD 6,76), dok je medijana uzrasta iznosila 13 godina. Najraniji smrtni ishod je registrovan u uzrastu od 4 godine, a najstarija bolesnica sa smrtnim ishodom je imala 24 godine. Najčešći uzrok smrti u ovoj grupi je bila pneumonija (11/19 bolesnica, 57,9% od broja umrlih), a potom sledi hronična respiratorna insuficijencija (5/19, 26,3%). Nagla smrt se dogodila kod troje pacijenata, najverovatnije nastala usled autonomnih poremećaja ili aspiracije hrane. Nagla smrt se u proseku dešavala u ranijem uzrastu (medijana 6 godina) nego smrt od pneumonije (medijana 12 godina), dok je hronična respiratorna insuficijencija bila uzrok smrti u kasnijem uzrastu (medijana 22 godina). Ovo opažanje nije imalo statističku značajnost (KW  $\chi^2$  3,79 , p 0,151) (Slika IV.6).



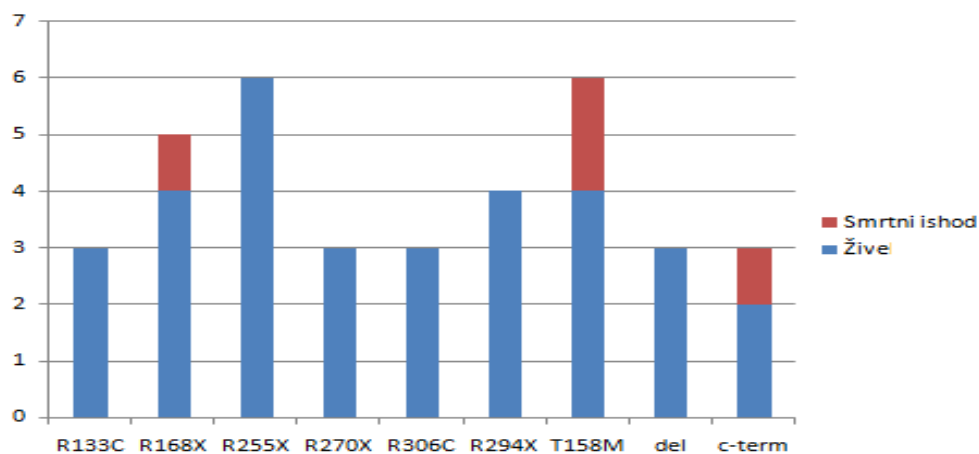
Slika IV.6. Uzrast u vreme smrtnog ishoda u odnosu na uzrok smrti

Svi smrtni ishodi koji su registrovani u ispitivanoj grupi dogodili se se kod bolesnica sa klasičnim oblikom RTT sindroma (19/88, 21,6%). Postojala je značajna statistička razlika u smrtnosti između bolesnica sa klasičnim RTT i atipičnim RTT (Fisher p 0,044) (Slika IV.7.)



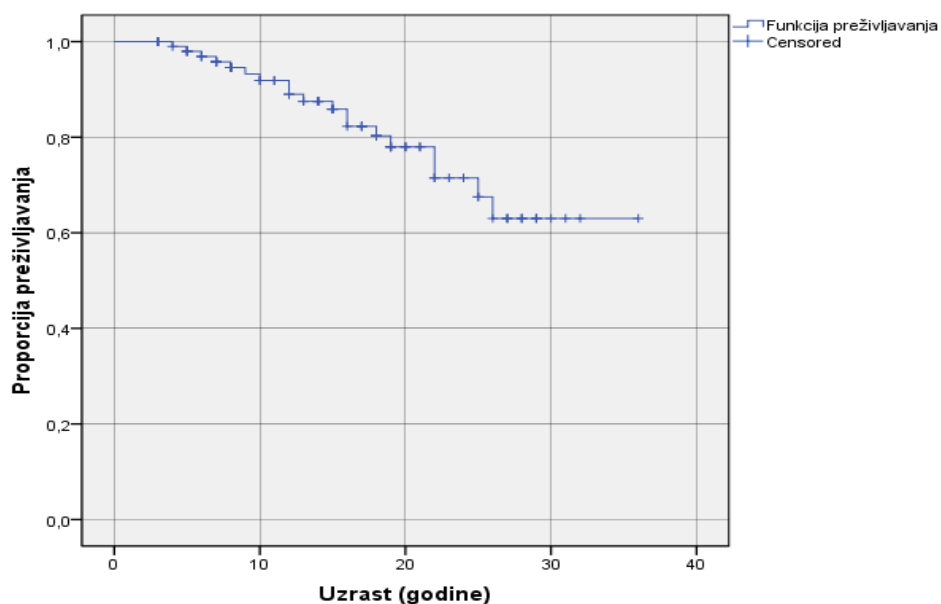
Slika IV.7. Smrtnost kod bolesnica sa klasičnim i atipičnim Retovim sindromom

Letalitet se nije značajno razlikovao između bolesnica sa različitim mutacijama u MECP2 genu (Fisher p 0,70) (Slika IV.8).



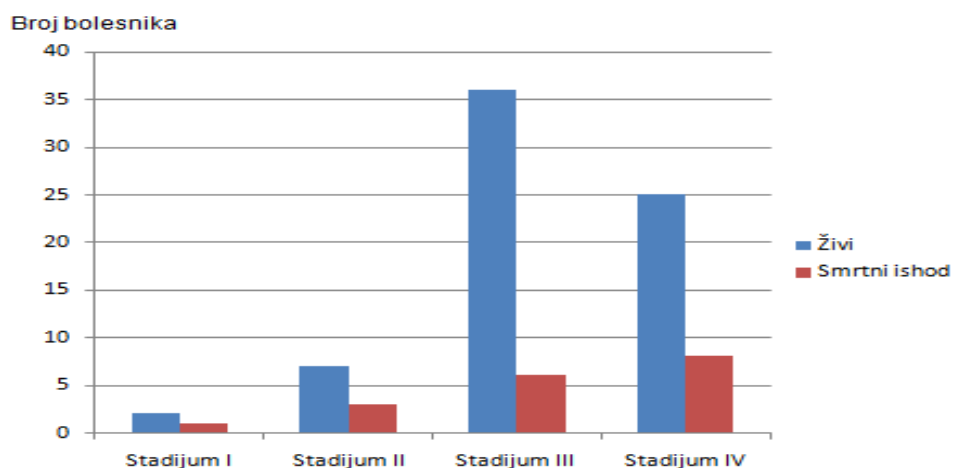
Slika IV.8. Smrtnost kod bolesnica sa RTT u odnosu na mutacije u MECP2 genu

Kaplan-Meier funkcija preživljavanja je pokazala da se smrtni ishod kod RTT do 12. godine očekuje kod 11%, a do 25. kod 32,5% pacijentkinja u našoj grupi. Posle 24. godine života u našoj grupi nisu registrovani smrtni ishodi i od tog uzrasta se zapaža plato Kaplan-Meierove funkcije (slika IV.9).



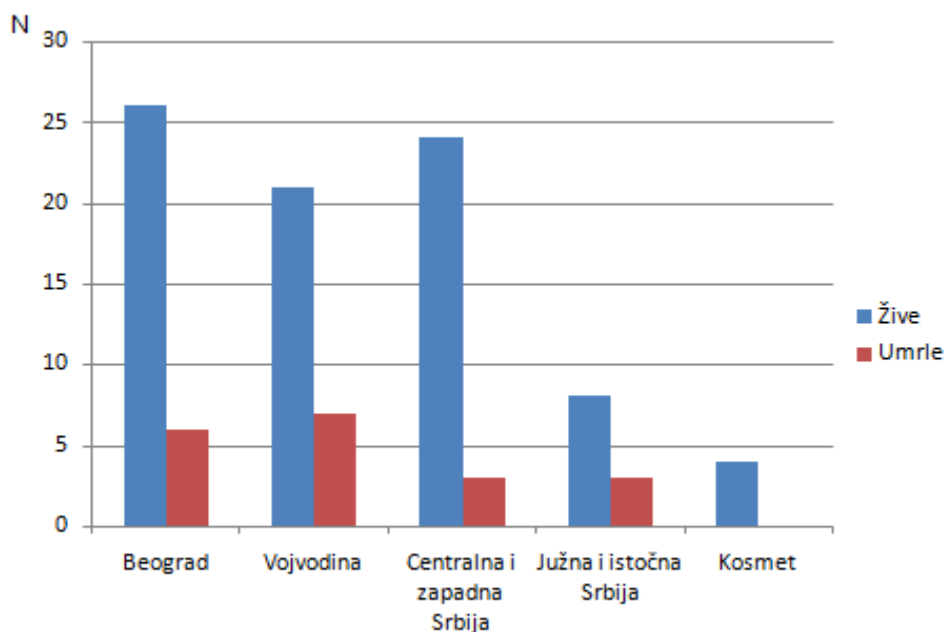
Slika IV.9. Kriva preživljavanja bolesnica sa RTT po Kaplan-Meieru

Nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti smrtnih ishoda u odnosu na stadijum bolesti ( $p 0,552$ , Fisher) (slika IV.10).



Slika IV.10. Letalitet u različitim stadijumima Retovog sindroma

Prethodno je opisana regionalna specifičnost u prevalenciji RTT u Srbiji. Letalitet se između statističkih regiona Srbije nije značajno razlikovao (Fisher,  $p 0,541$ ) (Slika IV.11.)

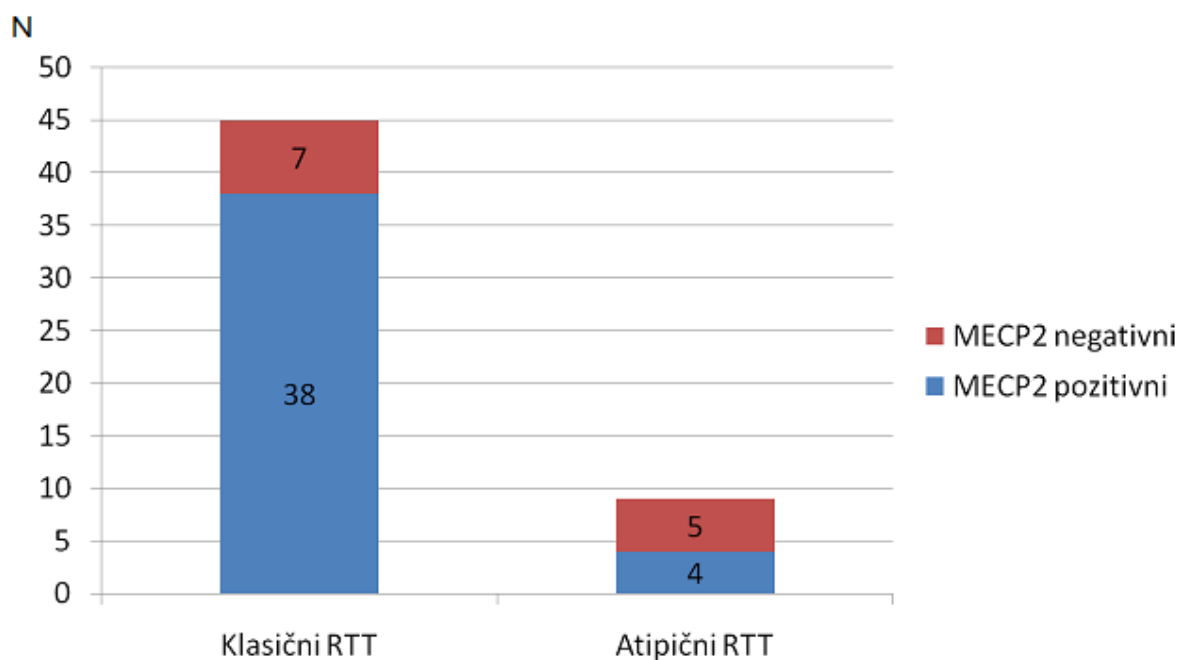


Slika IV.11. Letalitet kod bolesnika sa RTT po statističkim regionima Srbije

## IV.2. Genotipsko-fenotipska korelacija kod pacijentkinja sa Retovim sindromom

Za 88 bolesnica sa kriterijumima za Retov sindrom prikupljeni su kompletni podaci svih parametara kliničke slike. Od ovog broja, molekularno testiranje u genu MECP2 je sprovedeno kod 54 pacijentkinje. Mutacija je potvrđena kod 42 bolesnice (77,8%). Kod jedne pacijentkinje sa ranim početkom napada je sprovedeno testiranje u genu CDKL5 i potvrđena je mutacija.

Kod bolesnica sa klasičnim RTT mutacija u MECP2 genu je bila prisutna kod 84,4%, a kod atipičnog RTT dokazana je u 44,4%. Utvrđeno je da se mutacija u MECP2 genu statistički značajno manje otkrivaju kod bolesnica sa atipičnim RTT. (Fisherov test,  $p$  0,019) (slika IV.12).



Slika IV.12. Zastupljenost mutacija u MECP2 genu kod bolesnica sa klasičnim i atipičnim RTT ( $p$  0,019)

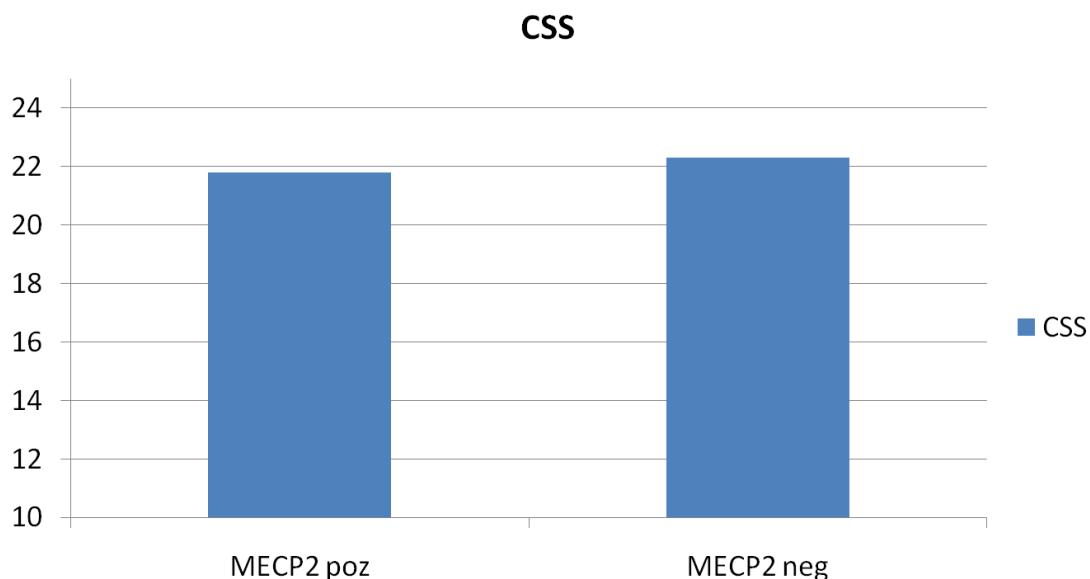
Najčešće registrovane mutacije MECP2 gena u uzorku od 88 bolesnica sa RTT sindromom su bile T158M, R168X, R255X (po 9,3%). Kompletan profil mutacija u MECP2 genu kod pacijenata iz subkohorte dat je u tabeli IV.4.



*Tabela IV.4. Profil mutacija u MECP2 genu registrovan kod 42 bolesnice pozitivne na promene u MECP2 genu*

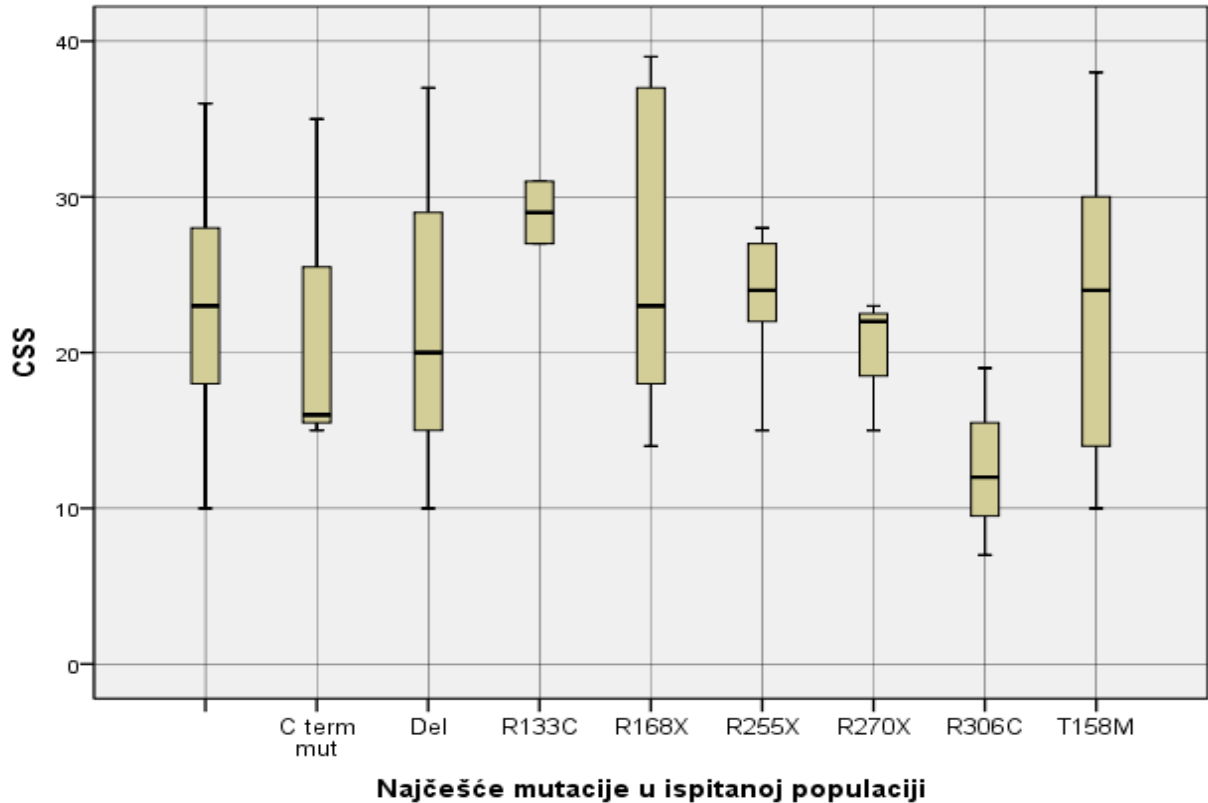
Mutacija u MECP2 genu	Broj bolesnica	% bolesnika
T158M	5	9,3
R168X	5	9,3
R255X	5	9,3
Delecije	4	7,4
R270X	3	5,5
R306C	3	5,5
C-terminalne mutacije	3	5,5
R133C	2	3,7
E235fs	1	1,8
K135E	1	1,8
K254X	1	1,8
K267X	1	1,8
L386fs	1	1,8
P152R	1	1,8
P225R	1	1,8
R133H	1	1,8
R269X	1	1,8
R294X	1	1,8
T299T	1	1,8
V300fs	1	1,8

Nije utvrđena statistički značajna razlika između skora CSS kod RTT bolesnica sa prisutnom mutacijom u MECP2 i onih kod kojih mutacija je negativna ( $t -0,199$ ,  $p 0,843$ ) (slika IV.13.)



Slika IV.13. Skor CSS kod RTT bolesnica u odnosu na prisustvo MECP2 mutacije

Ispitivan je skor CSS između grupa pacijenata sa pojedinačnim mutacijama u MECP2 genu. Analizom varijanse je utvrđeno da nije postojala statistički značajna razlika u razlici skora CSS između nosilaca različitih mutacija ( $F 0,78$ ,  $p 0,61$ ). Najviši CSS skor je zabeležen za mutacije R133C ( $29,0 \pm 2,83$ ), R168C ( $26,2 \pm 11,3$ ) i R255X ( $23,2 \pm 5,17$ ), dok je najniži bio prisutan kod mutacija R306C ( $12,67 \pm 6,03$ ) i R270X ( $20,0 \pm 4,36$ ). Grafički prikaz je dat na slici IV.14.



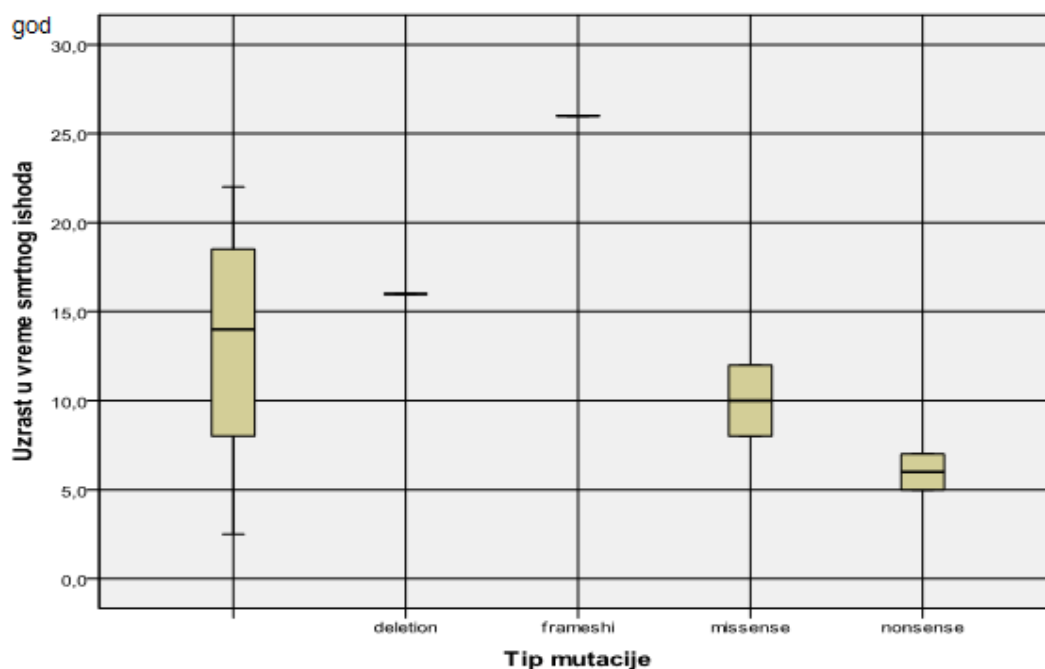
Slika IV.14. Skor CSS kod nosilaca najčešćih mutacija u MECP2 genu (razlika bez statističke značajnosti ( $F 0,78$ ,  $p 0,61$ ))

Tip mutacije takođe nije imao uticaj na CSS (Anova,  $F 0,192$ ,  $p 0,941$ ). Pozicija mutacije u MECP2 takođe nije imala uticaj na skor CSS (Anova,  $F 0,91$ ,  $p 0,471$ ). Prikaz dobijenih vrednosti je dat u tabeli IV.5.

Tabela IV.5. Skor CSS u odnosu na tip i poziciju mutacije u MECP2 genu (bez statistički značajne razlike)

Tip mutacije u MECP2 genu	CSS	Pozicija mutacije u MECP2 genu	CSS
Missense	19,8±9,37	TRD NLS	21,8±6,37
Nonsense	22,0±8,46	TRD	15,25±7,09
Delecija	22,2±10,9	MBD	22,9±8,96
Frameshift	25,5±14,8	C terminalni region	22,3±11,85
Silent	26,0±11,27	Interdomenski region	26,0±11,27

Ustanovili smo da su bolesnice sa nonsens mutacijama imali raniji smrtni ishod u odnosu na nosioce missense mutacija (Anova, F 19,4, p 0.049) (slika IV.15). Radi se o malom uzorku (po 2 smrtna ishoda). Kruskal-Wallisovim testom nije potvrđena ova značajnost ( $\chi^2$  4,71, p 0,194). Prikaz rezultata je dat na slici broj 5. Pozicija mutacije ili prisustvo pojedinačnih mutacija nije imalo uticaja na uzrast z vreme smrtnog ishoda ( $\chi^2$  3,8, p 0,284).



Slika IV.15. Uzrast u vreme smrtnog ishoda u odnosu na poziciju mutacije

Nije bilo značajne razlike u učestalosti smrtnog ishoda kod nosilaca različitih mutacija ( $\chi^2$  4,2, p 0,84). Umrlo je 40% pacijenata sa T158X mutacijom, dok među bolesnicama sa dokazanim R133C, R270X, R306C i C-terminalnim mutacijama nije bilo smrtnih ishoda (tabela IV.6). Nije bilo statistički značajne razlike u dužini praćenja između ovih grupa (F 0,58, p 0,765). Deset smrtnih ishoda je registrovano kod bolesnica u kojih nije sprovedeno molekularno-genetičko testiranje u MECP2 genu ili drugim genima odgovornim za nastanak RTT. Dva smrtna ishoda dogodila su se kod bolesnica koje su testirane na MECP2 ali nisu imale prisutne mutacije.

*Tabela IV.6. Broj umrlih u odnosu na tip mutacije u MECP2 genu*

Mutacija u MECP2 genu	Proporcija broja umrlih u odnosu na broj obolelih (%)	Srednja dužina praćenja bolesnica (godine)
T158M	2/5 (40%)	10,6
R168X	1/5 (20%)	9,8
R255X	1/5 (20%)	12,2
R270X	0/3 (0%)	17,7
R306C	0/3 (0%)	14,3
R133C	0/2 (0%)	16,0
C terminalne mutacije	0/3 (0%)	15,3
Delecije	1/4 (25%)	12,0
MECP2 mutacija odsutna	2/12 (16,7%)	11,4

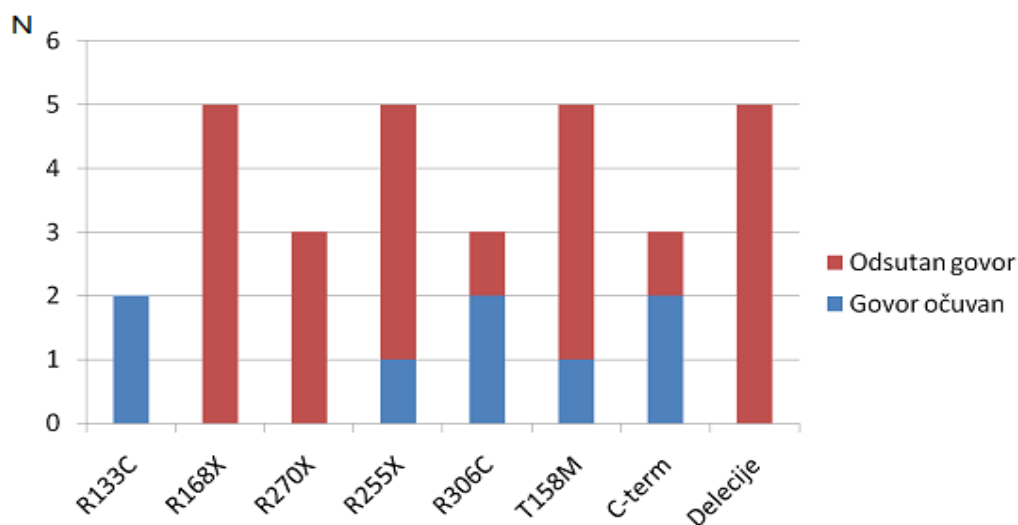
Tip i pozicija mutacije u MECP2 genu nisu uticali na rizik bolesnica za smrtni ishod ( $p = 0,768$ , odnosno  $p = 0,735$ ).

Ispitivani su pojedinačni klinički parametri u odnosu na mutacije u MECP2 genu. Nije utvrđena značajna statistička razlika u prisustvu disajnih i gastrointestinalnih manifestacija, kao i autoagresivnog ponašanja između nosilaca različitih mutacija (tabela IV.7). Ipak, opaženo je da su disajni poremećaji (hiperventilacija i/ili apneje i/ili krize zacenjivanja) bili zastupljeni kod svih bolesnica sa T158M i R255X mutacijama. Gastrointestinalne smetnje (konstipacija i/ili GER i/ili aerofagija) bile su prisutne kod 80% nosilaca R255X mutacije, dok je autoagresivno ponašanje najprisutnije bilo kod bolesnica sa T158M mutacijom (80%).

Tabela IV.7. Klinički parametri (autoagresivno ponašanje, disanje i gastrointestinalne manifestacije) u odnosu na mutacije u MECP2 genu

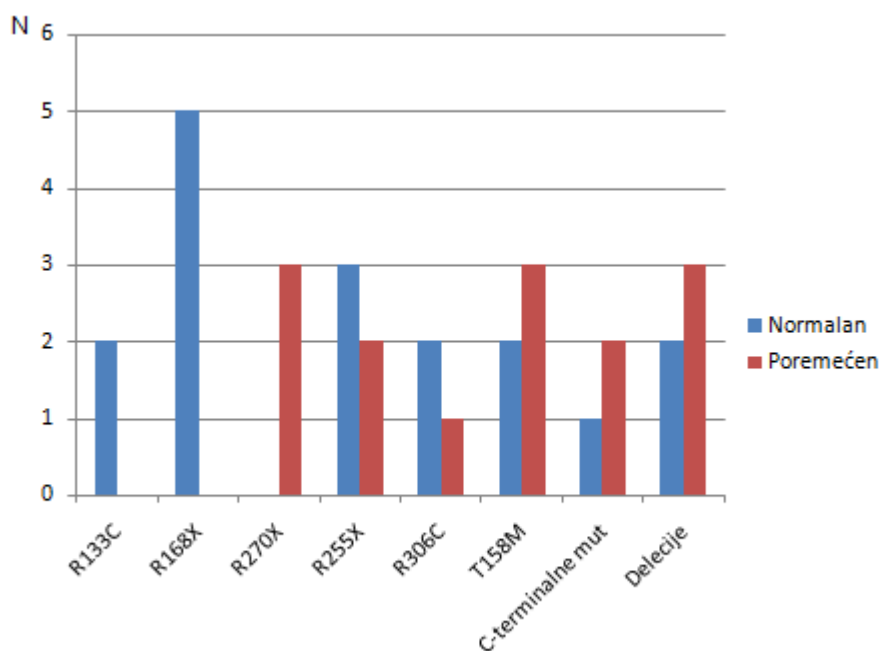
Mutacija	Autoagresivno ponašanje	P (Fisher)	Disanje	P (Fisher)	Gastrointestinalne manifestacije (%)	P (Fisher)
T158M	4/5		5/5		3/5	
R168X	3/5		4/5		3/5	
R255X	1/5		5/5		4/5	
R270X	0/3		3/3		2/3	
R306C	1/3	0,322	2/3	0,872	2/3	0,842
R133C	0/2		2/2		2/2	
C terminalne mutacije	1/3		2/3		1/3	
Delecije	1/5		4/5		2/5	

Govor je bio u potpunosti odsutan kod bolesnica sa mutacijama R270X, R168X i delecijama u MECP2 genu, dok su bolesnice sa R133C, R306C i C-terminalnim mutacijama u većini imali očuvane makar minimalne govorne funkcije (slika IV.16). Za ovaj nalaz dobijena je statistička značajnost (Fisherov test tačne verovatnoće, p 0,019).



Slika IV.16. Govorne sposobnosti u odnosu na mutacije u MECP2 genu

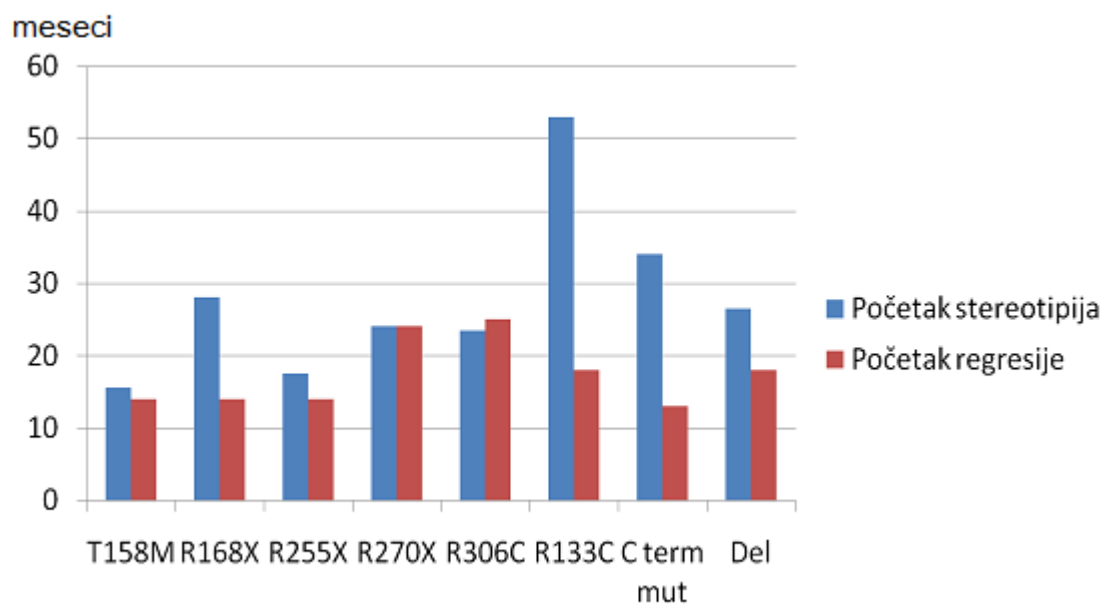
Utvrđena je statistički značajna razlika u prisustvu poremećaja ranog razvoja (tokom prvih šest meseci) u odnosu na mutaciju ( $\chi^2$  15,4, p 0,048). Poremećaj ranog razvoja se odnosio na prisustvo hipotonije, smanjene zainteresovanost za okolinu, kašnjenja u ostvarivanju miljokaza razvoja, poremećaja sna i/ili konvulzivnih napada. Kod nosilaca mutacije R168X (5 bolesnica) i R133C (2 bolesnice) rani razvoj je bio uredan, dok je kod R270X mutacije razvoj bio usporen u ranoj fazi kod sve 3 bolesnice (slika IV.17).



Slika IV.17. Rani razvoj u odnosu na mutaciju u MECP2 genu

Period početka regresije, prisustvo epilepsije i sposobnost kretanja nisu se statistički značajno razlikovali između bolesnica sa različitim mutacijama (p 0,559 za početak regresije, p 0,836 za epilepsiju, p 0,304 za kretanje). Kod nosilaca mutacije R306C registrovan je normalan obim glave, kao i kod većine nosilaca R270X, dok je kod drugih mutacija većina imala obim glave ispod P3 ( $\chi^2$  14,57, p 0,068).

Uzrast početka stereotipija se statistički značajno razlikovao između nosilaca najčešćih MECP2 mutacija (Anova, F 3,31, p 0,023) (slika IV.18).



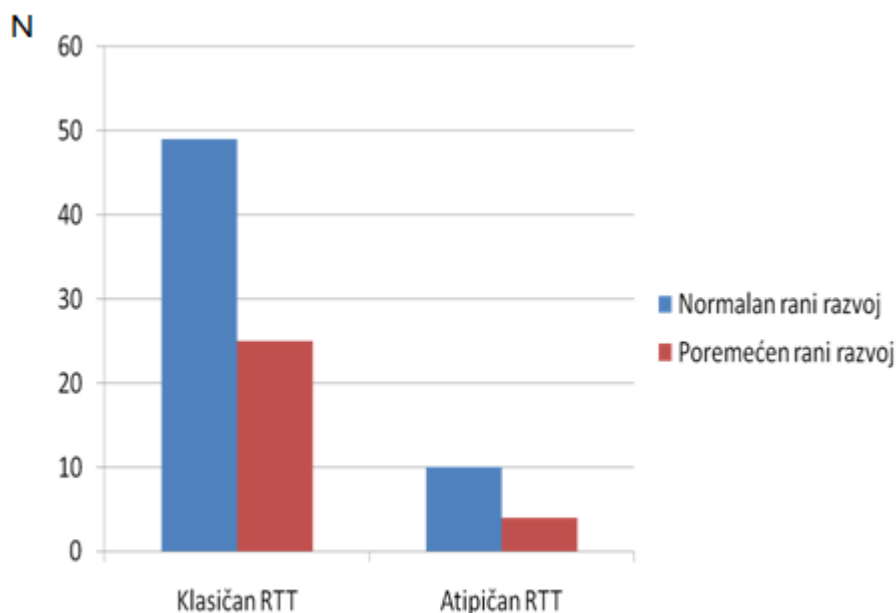
*Slika IV.18. Uzrast početka stereotipija u odnosu na mutacije MECP2 gena*



### IV.3 Klinička slika Retovog sindroma

#### IV.3.1. Neurorazvojni aspekti Retovog sindroma

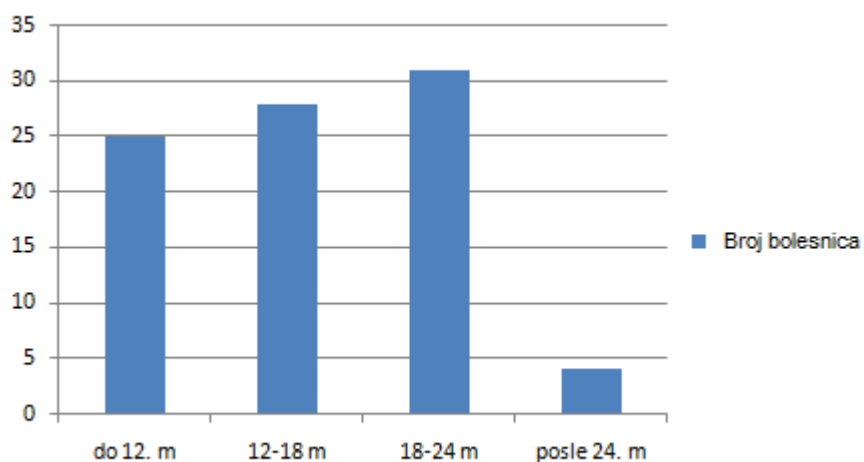
Poremećaj ranog razvoja je bio prisutan kod 29 pacijenata (32,9%) od 88 sa kompletno dokumentovanom evolucijom Retovog sindroma. Najčešće se radilo o hipotoniji (20 bolesnica), a potom su sledili smanjena zainteresovanost za okolinu (6) i poremećen obrazac sna (2). Nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti poremećaja ranog razvoja (u prvih 6 meseci života) između bolesnica sa klasičnim RTT i bolesnica sa atipičnim RTT ( $p = 0,768$ ) (Slika IV.19).



Slika IV.19. Zastupljenost poremećaja ranog razvoja kod klasičnog i atipičnog RTT

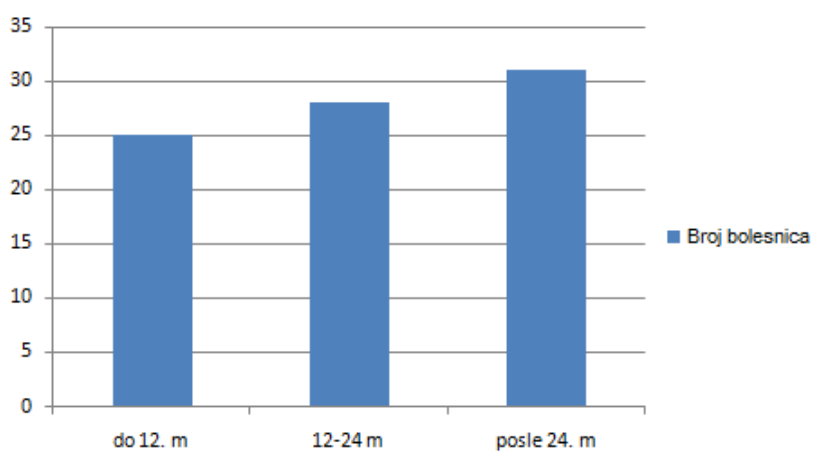
Prvi znaci razvojne regresije su najčešće uočeni u uzrastu između 18 i 24 meseca (31 bolesnik, 35,2%), a najređe u uzrastu posle 24. meseca (4 bolesnice, 4,5%) (slika IV.20). Nije uočena statistički značajna razlika u uzrastu početka regresije u odnosu na tip RTT ( $p = 0,849$ ). Kod bolesnica sa poremećajem ranog razvoja (hipotonija, smanjena zainteresovanost za okolinu i/ili poremećen obrazac sna) vreme početka regresije se takođe nije značajno razlikovalo ( $p = 0,099$ ). U poglavlju o genotipsko-fenotipskoj korelaciji ovog rada je navedeno

da se uzrast početka regresije nije razlikovao između bolesnica u odnosu na tip mutacije u MECP2 genu (p 0,559).



*Slika IV.20. Distribucija uzrasta početka razvojne regresije kod 88 bolesnica sa RTT (m – meseci)*

Stereotipni pokreti ruku bili su prisutni kod svih bolesnica. Srednja vrednost uzrasta početka stereotipnih pokreta ruku je iznosila  $25,46 \pm 12,99$  meseca, sa medijanom od 24 meseca. Početak stereotipija se javljao kod većine pre 24. meseca (Slika IV.21). Medijana uzrasta za pojavu stereotipija se nije statistički značajno razlikovala između bolesnica sa klasičnim RTT i bolesnica sa atipičnim RTT ( $Z -0,759$ ,  $p 0,448$ ).

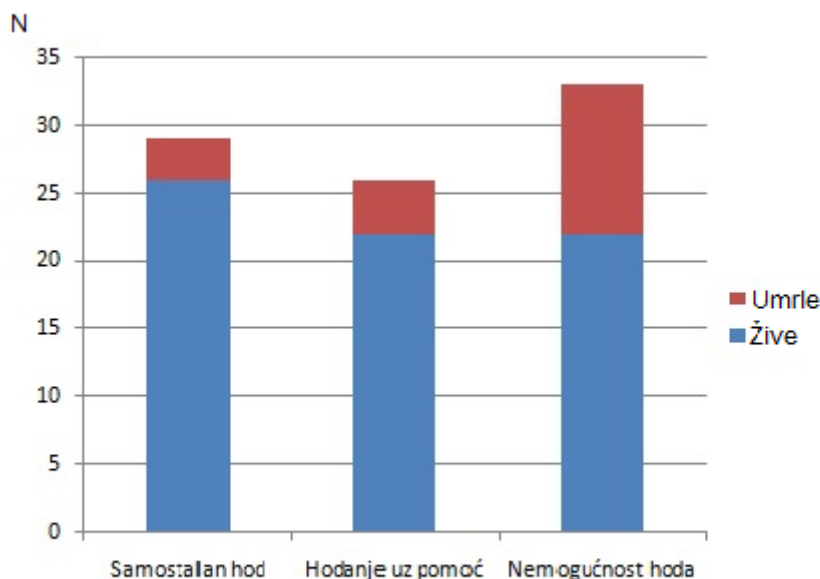


*Slika IV.21. Uzrast početka stereotipija (m – meseci)*

U poglavlju o genotipsko-fenotipskoj korelaciji ovog rada navedeno je da se uzrast početka stereotipija statistički značajno razlikovao između nosilaca najčešćih MECP2 mutacija (Anova, F 3,31, p 0,023).

Nije postojala statistički značajna korelacija između uzrasta početka stereotipija i uzrasta epilepsije (Pearson 0,021, p 0,87). Takođe, nije bilo statistički značajne korelacije između uzrasta početka stereotipija i uzrasta smrtnog ishoda (Pearson 0,20, p 0,42).

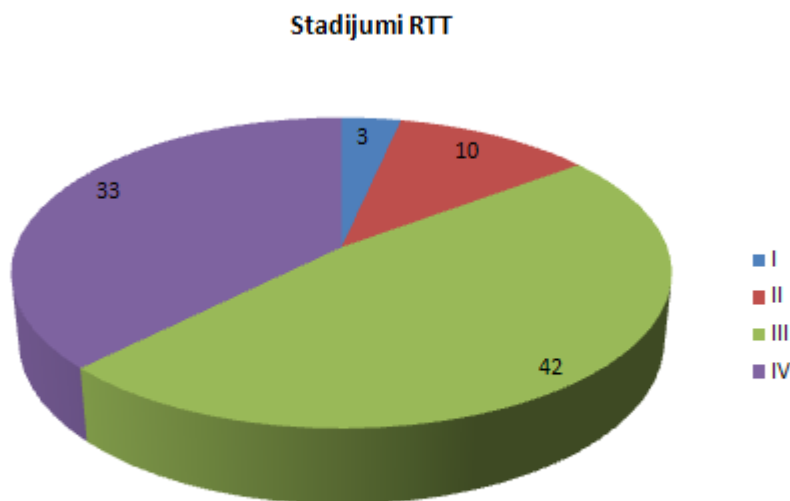
Sposobnost samostalnog hoda bila je očuvana kod 29 bolesnica sa RTT iz naše grupe (33%), hodanje uz asistenciju druge osobe bilo je prisutno kod 26 (29,5%), a nesposobnost kretanja i vezanost za postelju ili kolica registrovani su kod 29 (33%) pacijentkinja. Nije bilo statistički značajne razlike u sposobnosti kretanja u odnosu na uzrast devojčica (F 0,49, p 0,636). Takođe, nije bilo razlike u sposobnosti kretanja u odnosu na tip RTT ( $\chi^2$  0,537, p 0,76), tip mutacije u MECP2 genu (Fisher, 0,757) i prisustvo epilepsije ( $\chi^2$  1,58, p 0,45). Marginalna statistička značajnost je opažena za povišen rizik od smrtnog ishoda u grupi bolesnica koje su bile nesposobne za kretanje (Fisher, p 0,057) (Slika IV.22.)



Slika IV.22. Smrtni ishodi u odnosu na sposobnost kretanja kod bolesnica sa RTT

Sposobnost govora nije postojala kod 61 ispitanice (69,3% uzorka), dok su minimalne govorne sposobnosti bile očuvane kod 37 (30,7%). Jedna devojčica je zadovoljavala kriterijume za dijagnozu oblika sa očuvanim govorom (Zapella varijanta); kod nje je ustanovljena mutacija R133H. Prisustvo minimalnih govornih sposobnosti se nije značajno razlikovalo između bolesnica sa klasičnim RTT i onih sa atipičnim oblicima ( $\chi^2$  0,035, p 0,852). U poglavlju rada o rezultatima genotipsko-fenotipske korelacije dat je podatak da je postojala statistički značajna razlika u govornim sposobnosti između bolesnika sa različitim mutacijama u MECP2 genu (odsutan kod svih bolesnica sa mutacijama R270X, R168X i delecijama u MECP2 genu, dok su kod bolesnica sa R133C, R306C i C-terminalnim mutacijama u većini bile očuvane minimalne govorne funkcije p 0,019). Prisustvo minimalnih govornih sposobnosti se nije značajno razlikovalo između bolesnica sa epilepsijom i bez epilepsije ( $\chi^2$  2,09, p 0,148).

Većina bolesnica u našoj grupi je, u vreme analize, bila u III stadijumu Retovog sindroma (47,7%), dok je najmanje bilo u II stadijumu (11,4%) (slika IV.23). Učestalost smrtnih ishoda se nije značajno razlikovao u odnosu na stadijum bolesti (p 0,552, Fisher).



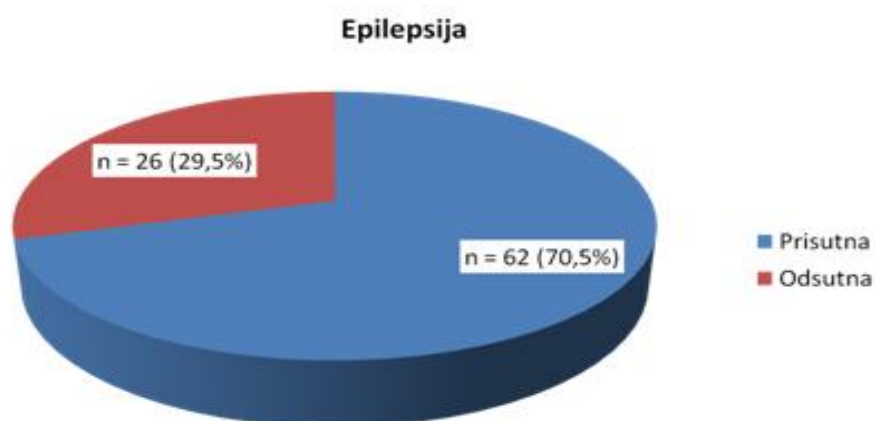
*Slika IV.23. Distribucija broja bolesnica sa RTT prema stadijumu bolesti u vreme sprovođenja studije*

Sve pacijentkinje u našoj grupi su bile sa određenim stepenom mentalne insuficijencije. Kod 50% testiranih bolesnica koeficijent inteligencije (IQ) je iznosio od 20-50, kod 35 (39,8%), IQ manji od 20 je registrovan kod 33 (37,5%) a kod 4,5% je bio veći od 50. Autoagresivno ponašanje je bilo prisutno kod 35/88 (39,8%) bolesnica sa RTT. Kod klasičnog RTT autoagresija je bila prisutna kod 40,5% bolesnica, a kod atipičnog RTT kod 35,7% a razlika nije bila statistički značajna ( $\chi^2$  0,11, p 0,74). Takođe, prisustvo autoagresije se nije značajno razlikovalo kod bolesnica sa različitim mutacijama (Fisher, p 0,261), kao ni između bolesnica sa i bez epilepsije ( $\chi^2$  0,099, p 0,753). Autoagresija je bila deo kliničke slike kod 44,4% bolesnice koje su kasnije imale smrtnih ishodom i 38,6% ostalih što nije bilo statistički značajno različito ( $\chi^2$  0,206, p 0,65).

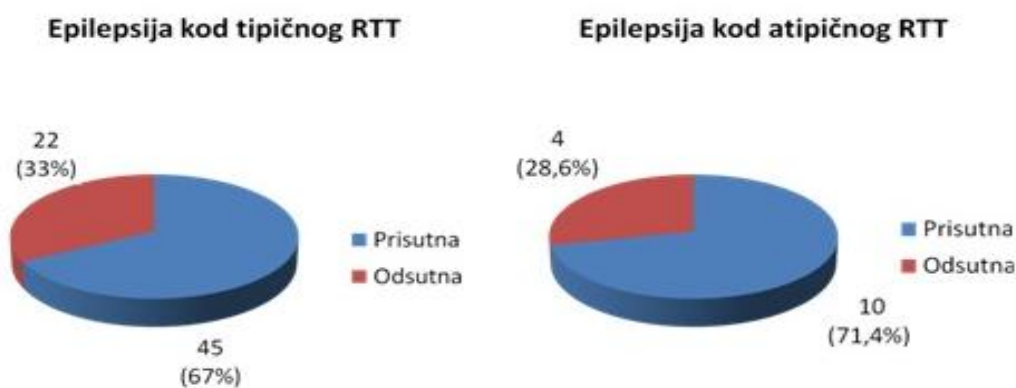
### IV.3.2. Epilepsija u Retovom sindromu

Epilepsija je bila prisutna kod 70,5% u grupi od 88 bolesnica sa Retovim sindromom za koju smo imali detaljne podatke o početku i toku epilepsije (Slika IV.24.A). Kod bolesnica sa klasičnim oblikom RTT, epilepsija je bila prisutna kod 67%, a kod bolesnica sa atipičnim RTT kod 4%. Postojala je statistički značajno veća zastupljenost epilepsije kod bolesnica sa klasičnim RTT u odnosu na atipični oblik ( $\chi^2$  1,46, p 0,227) (slika IV.24.B).

**A**

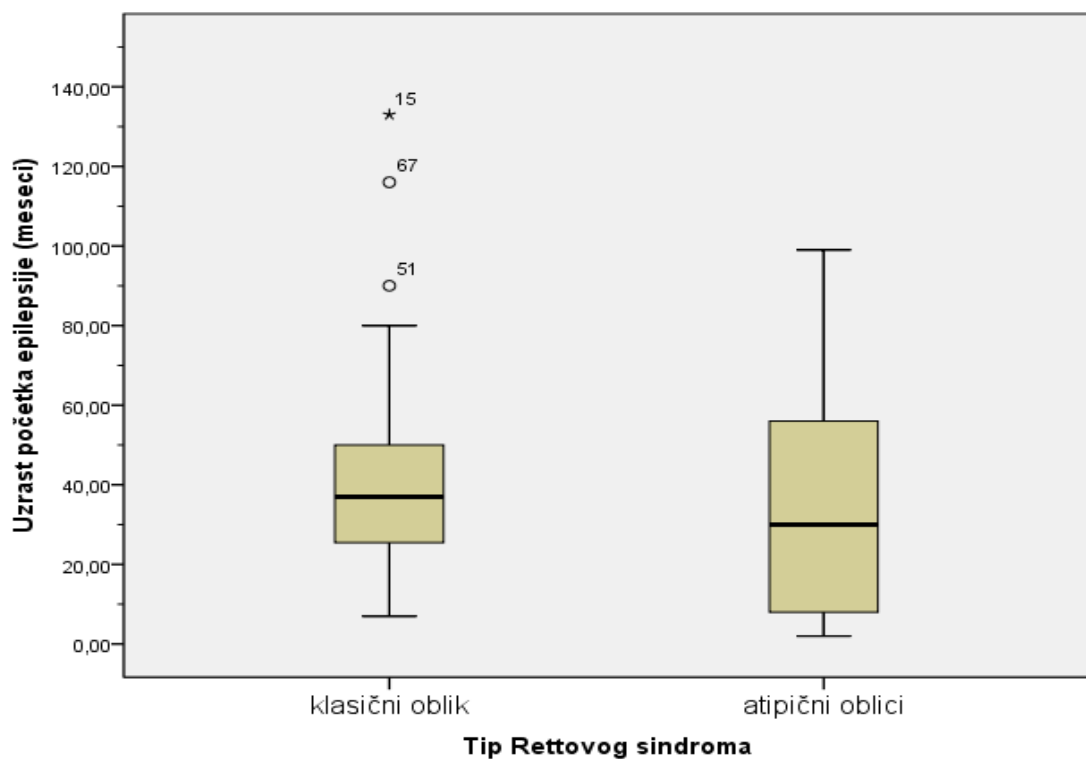


**B**



Slika IV.24. A) Zastupljenost epilepsije u Retovom sindromu, B) Zastupljenost epilepsije u odnosu na tip Retovog sindroma

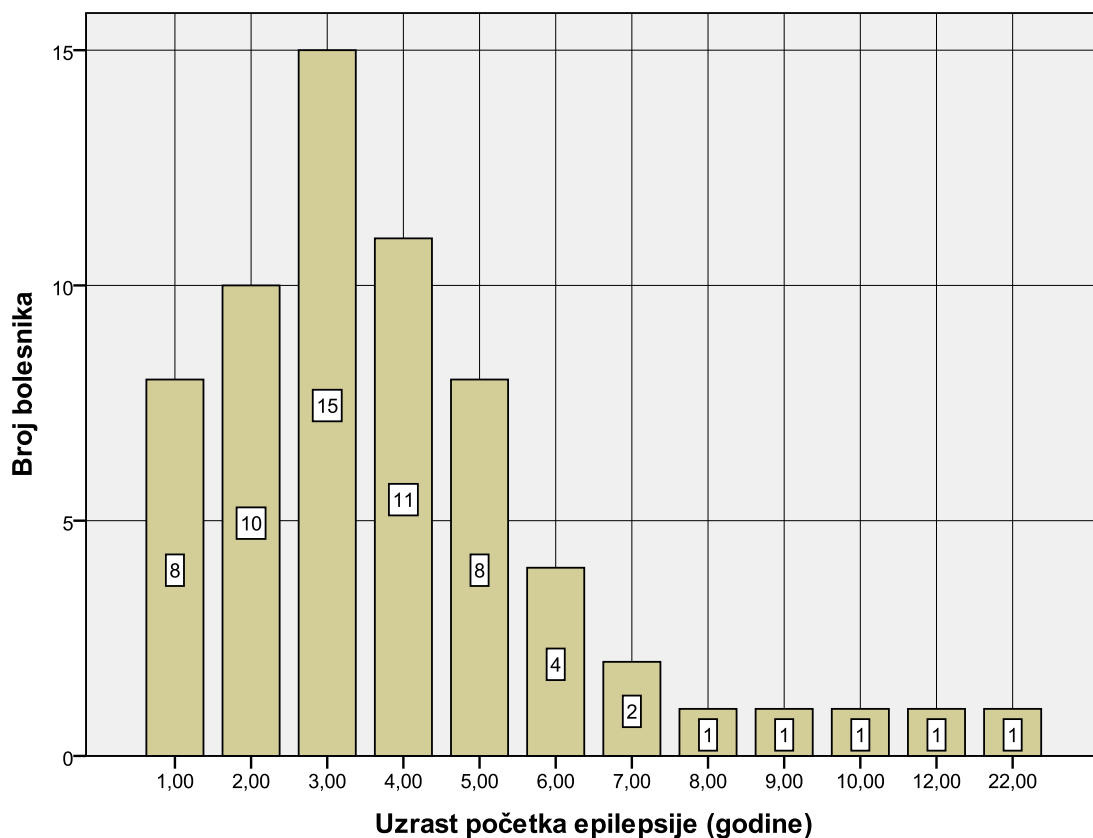
Srednji uzrast u kome se javila epilepsija kod ispitivanih bolesnica sa RTT iznosio je 45,1 mesec (SD 38,2), a medijana je iznosila 36 meseci (IQR 28). Početak epilepsije je registrovan u širokom rasponu uzrasta, od 2. meseca do 21 godine i 10 meseci. Za klasični RTT medijana uzrasta početka epilepsije je iznosila 37 meseci (IQR 25,25), a medijana od 30 meseci (IQR 55,0) je registrovana za atipični RTT. Nije bilo statistički značajne razlike u uzrastu početka epilepsije između bolesnica sa klasičnim i atipičnim RTT (Mann Whitney U 216,5, p 0,208) (Slika IV.25).



Slika IV.25. Uzrast početka epilepsije u odnosu na tip Rettovog sindroma

Nije bilo statistički značajne razlike u prevalenciji epilepsije između bolesnica sa urednim ranim razvojem (do 6. meseca) i grupe sa poremećenim ranim razvojem ( $\chi^2$  0,046, p 83). Takođe, nije bilo statistički značajne razlike u uzrastu početka epilepsije između grupe bolesnica sa urednim ranim razvojem i grupe sa poremećenim ranim razvojem (Mann Whitney U 376, p 0,343)

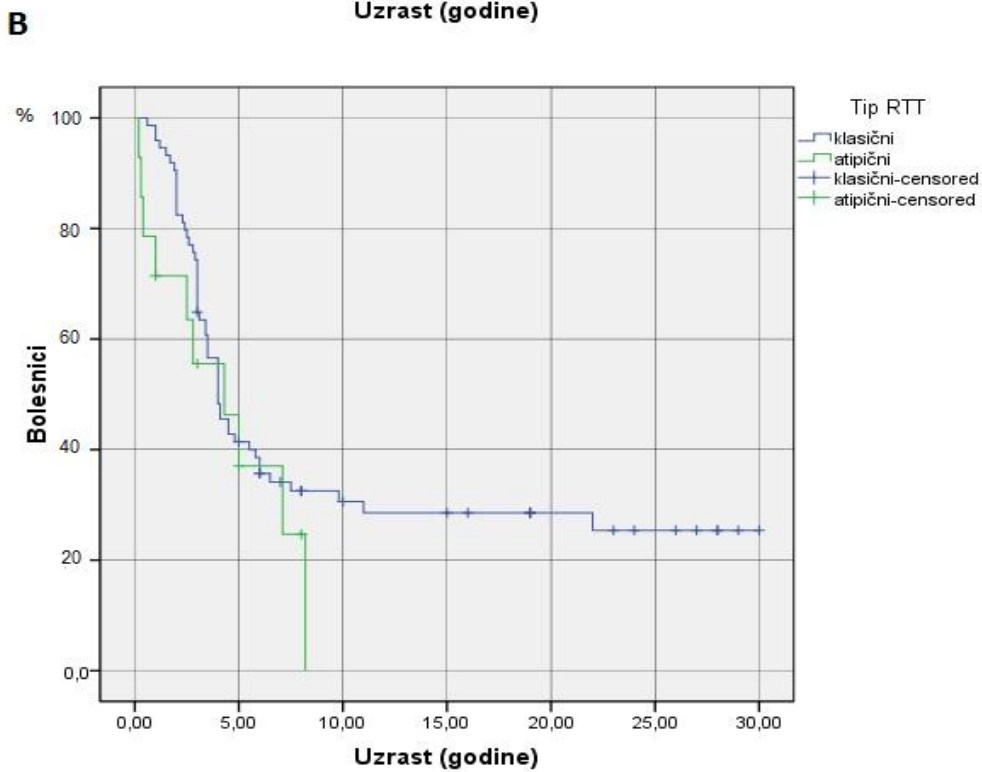
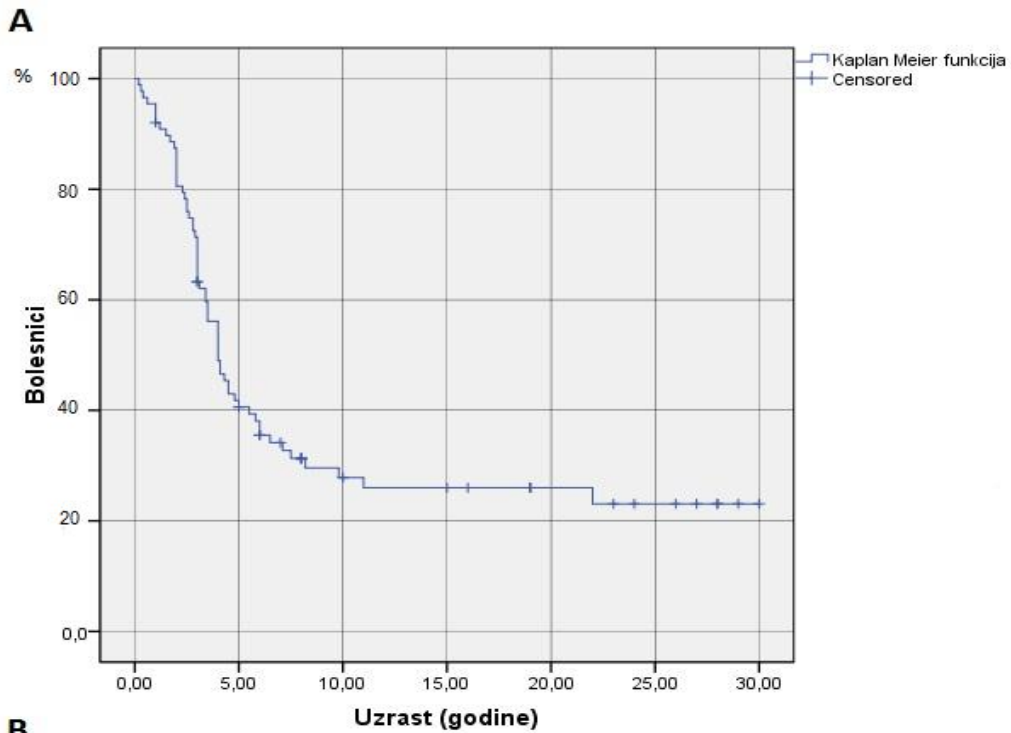
Epileptički napadi su se prvi put pojavili najčešće u trećoj godini života. Kod više od polovine bolesnika epilepsija je počela u rasponu od druge do pete godine života. Svega 5 bolesnika je imalo početak epilepsije posle navršene sedme godine života. Kod 12,9% konvulzije su se pojavile u prvoj godini života (Slika IV.26).



Slika IV.26. Uzrast početka epilepsije kod bolesnika sa Retovim sindromom

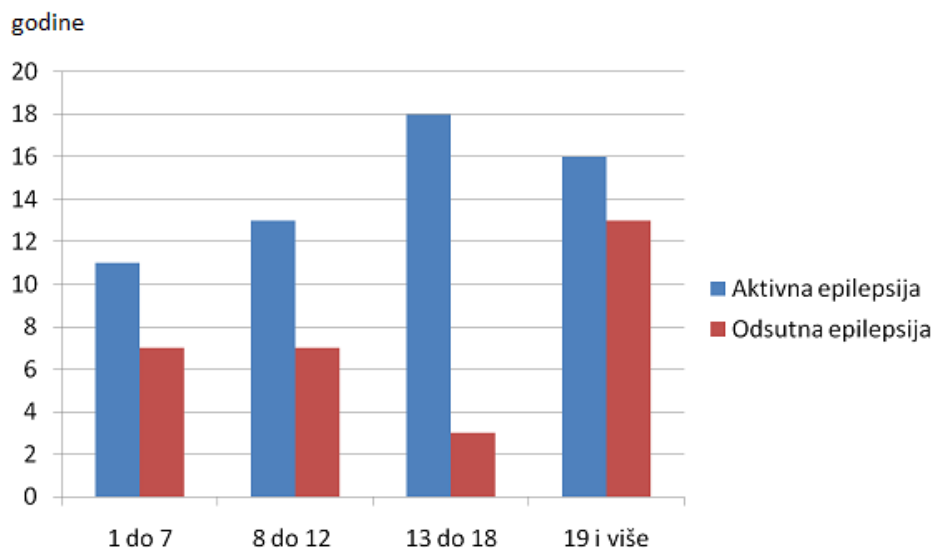
Prema Kaplan-Meierovoj funkciji, dobijeno je da je rizik za pojavu epilepsije do 4. godine iznosio 51%, a do 8. godine 70% (Slika IV.27.A). Utvrđene su krive po Kaplan-Meieru za pojavu epilepsije kod klasičnog RTT i atipičnog RTT a razlika je bila bez statističke značajnosti ( $\chi^2$  1,33, p 0,249) (Slika IV.27.B).





*Slika IV.27. A) Kriva po Kaplan-Meieru za pojavu epilepsije kod bolesnica sa RTT, B) Krive po Kaplan-Meieru za pojavu epilepsije kod bolesnica sa klasičnim RTT i atipičnim RTT*

U uzrastu između 13. i 18. godine registrovana je najviša prevalencija aktivne epilepsije (85,7%) (Slika IV.28). Najmanja prevalencija napada je zabeležena u grupi starijih od 18 godina (55,2%), potom sledi grupa od prve do sedme godine (61,1%) i od osme do dvanaeste godine (65%). Razlika između navedenih grupa ne dostiže statističku značajnost (hi kvadrat 5,35, p 0,148).



Slika IV.28. Prisustvo aktivne epilepsije kod bolesnika u različitim uzrasnim grupama

Najčešće registrovani tip napada kod RTT bolesnika sa epilepsijom bili su generalizovani toničko-klonički i parcijalni kompleksni napadi. Zastupljenost različitih vrsta napada data je u tabeli IV.8.

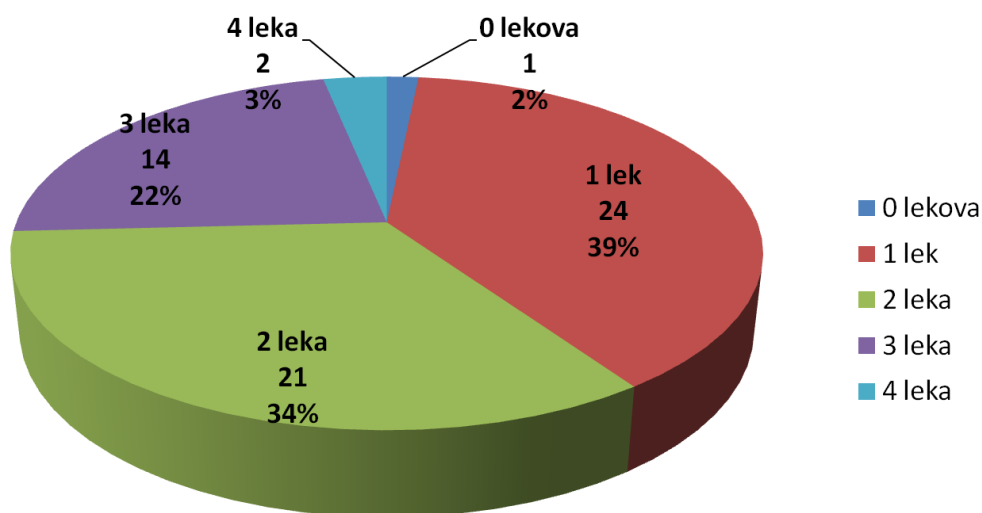
Tabela IV.8. Vrste napada kod bolesnika sa Retovim sindromom i epilepsijom

Vrsta napada	Broj bolesnika (%)
Generalizovani toničko-klonički napadi	40 (64,5)
Parcijalni kompleksni napadi	36 (58,1)
Parcijalni napadi	15 (24,2)
Tonički napadi	6 (9,7)
Atonički napadi	6 (9,7)
Mioklonički napadi	6 (9,7)
Apsansi	2 (3,2)

U ispitivanoj grupi bolesnica sa RTT i epilepsijom, najčešće korišćeni lekovi su bili valproat, karbamazepin i lamotrigin (tabela IV.9). Monoterapija je korišćena kod najvećeg broja lečenih bolesnica (39%), dok je upotreba 4 leka bila prisutna kod dvoje (slika IV.29). Kod jedne bolesnice, remisija epilepsije je trajala dovoljno dugo da bi terapija bila ukinuta.

*Tabela IV.9. Antiepileptički lekovi u upotrebi kod bolesnica sa Retovim sindromom i epilepsijom*

Antiepileptik	Broj bolesnica na terapiji
Valproat	32
Karbamazepin	18
Lamotrigin	17
Klobazam	15
Topiramat	14
Levetiracetam	7
Klonazepam	8
Fenobarbiton	3
Vigabatrin	1



*Slika IV.29. Distribucija upotreba antiepileptičke monoterapije i politerapije kod bolesnica sa RTT i epilepsijom*

U proseku su bolesnice sa RTT i epilepsijom koristili 1,83 leka (SD 0,85), a medijana je iznosila 2 leka. Pacijenti sa klasičnim RTT koristili su u proseku 1,76, a sa atipičnim RTT 2,08 lekova, dok je medijana bila ista (2). Nije bilo statistički značajne razlike u broju antiepileptika koji su koristili bolesnice sa klasičnim RTT u odnosu na bolesnice sa atipičnim RTT (Mann Whitney U 254,5, p 0,338).

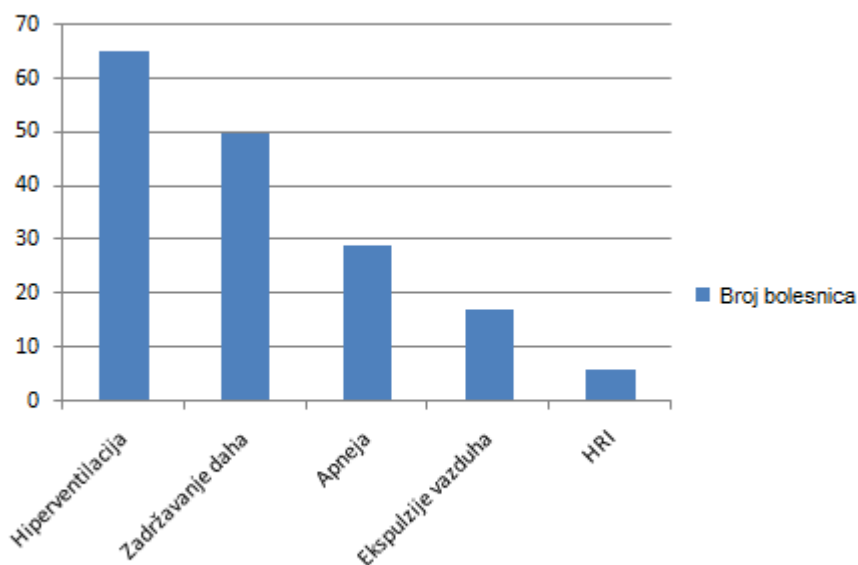
Visoku zastupljenost epilepsije imali su bolesnice sa sledećim MECP2 mutacijama: R270X, R133C, C-terminalnim mutacijama, R255X, R168X i R 255X (tabela IV.10.). Nije bilo statistički značajne razlike u prevalenciji epilepsije između bolesnika sa različitim mutacijama (p 0,836).

*Tabela IV.10. Zastupljenost epilepsije u kod bolesnica sa najčešćim mutacijama u MECP2 genu*

Mutacija	Broj bolesnica sa epilepsijom/ukupno sa datom mutacijom
T158M	3/5 (60%)
R255X	4/5 (80%)
R270X	3/3 (100%)
R294X	1/1 (100%)
R306C	2/3 (66,7%)
P152R	0/1
R168X	4/5 (80%)
R133C	2/2 (100%)
CTS	3/3 (100%)
Delecije	3/5 (60%)
Odsutna MECP2 mutacija	9/12 (75%)

#### IV.3.3. Respiratorni poremećaji u Retovom sindromu

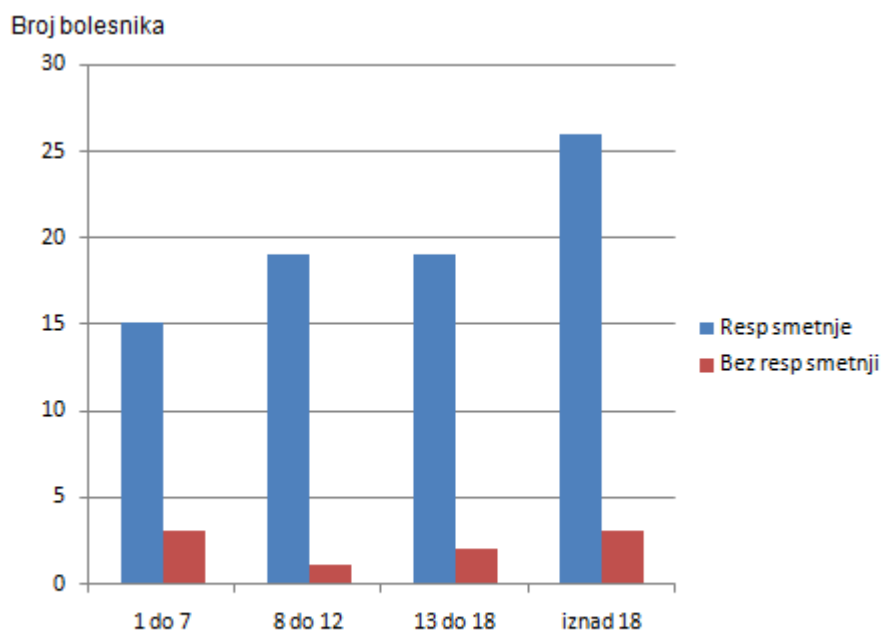
Respiratorne manifestacije RTT su bile prisutne kod 79 (89,8%) bolesnica u našoj studiji. Najčešće se radilo o hiperventilaciji koja je zabeležena kod više od tri četvrtine bolesnica, dok su u manjoj meri bile zastupljene ostale manifestacije: zadržavanje daha (*breath holding spells*), apneja, forsirane ekspulzije vazduha i hronična respiratorna insuficijencija (slika IV.30).



*Slika IV.30. Zastupljenost respiratornih poremećaja među bolesnicama sa RTT (HRI – hronična respiratorna insuficijencija)*

Respiratorne manifestacije su bile prisutne kod 90,5% bolesnica sa klasičnim RTT i kod 85% bolesnica sa atipičnim RTT, a za ovu razliku nije utvrđena statistička značajnost ( $p = 0,631$ ). Nije bilo značajne razlike u prisustvu respiratornih poremećaja u odnosu na tip mutacije u MECP2 genu (Fisher,  $p = 0,589$ ). Takođe, prisustvo respiratornih manifestacija nije bilo značajno različito između pacijenata sa epilepsijom i onih bez epilepsije (Fisher,  $p = 0,441$ ). Povećan rizik za smrtni ishod nije dokazan za pacijente sa respiratornim tegobama, iako su u procenu bili uključeni i pacijenti sa hroničnom respiratornom insuficijencijom (Fisher,  $p = 0,194$ ).

Respiratorne tegobe su približno jednako zastupljene u različitim starosnim grupama RTT (Fisher,  $p = 0,701$ ) (slika IV.31).

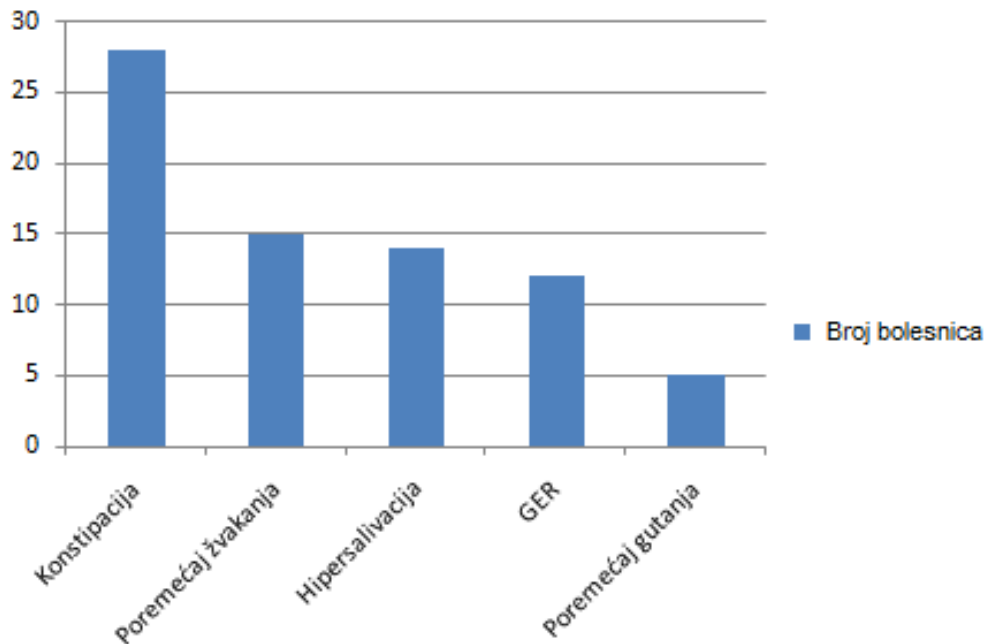


Slika IV.31. Respiratorne smetnje po uzrasnim grupama bolesnica sa RTT

U poglavlju *Epidemiologija Retovog sindroma – rezultati*, prezentiran je nalaz koji pokazuje da respiratorni poremećaji (pneumonija i hronična respiratorna insuficijencija) čine najčešći uzrok smrti kod bolesnica sa RTT u Srbiji, te drugi najčešći uzrok hospitalizacije u ovoj populaciji (pneumonija).

#### IV.3.4. Gastrointestinalne i nutritivne manifestacije Retovog sindroma

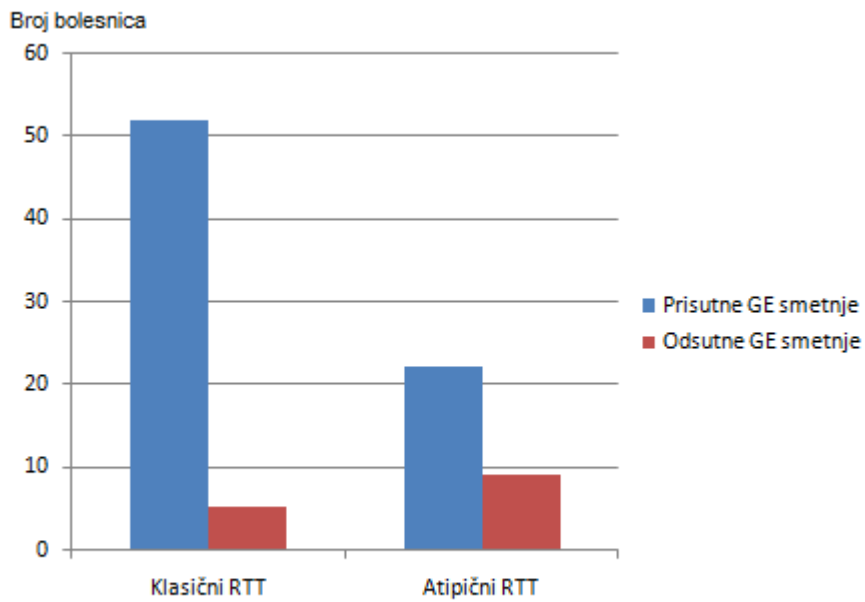
Gastrointestinalne (GI) manifestacije RTT su bile prisutne kod 57 (64,8%) bolesnica. Najčešće se radilo o konstipaciji koja se registruje kod gotovo polovine (49,1%) bolesnica sa gastrointestinalnim smetnjama, dok su u manjoj meri bile zastupljene ostale manifestacije (otežano žvakanje, hipersalivacija, gastroezofagealni refluks – GER, poremećaj gutanja) (slika IV.32).



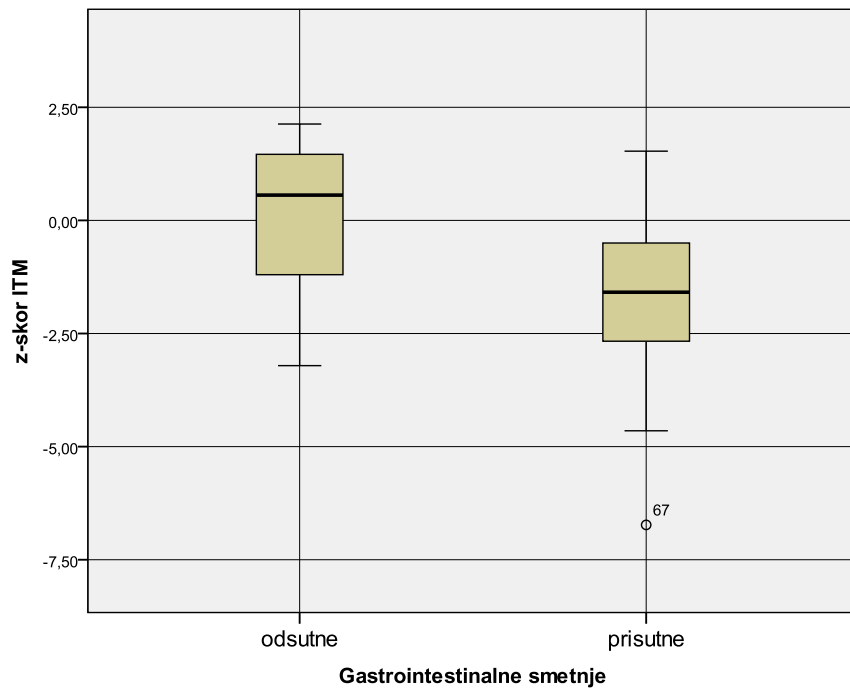
Slika IV.32. Zastupljenost gastrointestinalnih poremećaja među bolesnicama sa RTT (GER – gastroezofagealni refluks)

Gastrointestinalne smetnje su bile prisutne kod 70,3% bolesnica sa klasičnim RTT i kod 35,7% bolesnica sa atipičnim RTT, a za ovu razliku je utvrđena statistička značajnost ( $\chi^2$  6,16, p 0,013) (slika IV.33).

Nije bilo značajne razlike u prisustvu GI smetnji u odnosu na tip mutacije u MECP2 genu (Fisher, p 0,467). Takođe, prisustvo GI smetnje tokom trajanja bolesti nije bilo značajno različito između pacijenatkinja sa i bez smrtnog ishoda (Fisher, p 0,271), kao ni između pacijenatkinja sa i bez epilepsije ( $\chi^2$  0,81, p 0,368).



Slika IV.33. Zastupljenost gastroenteralne (GE) smetnji kod bolesnica sa klasičnim RTT i atipičnim RTT

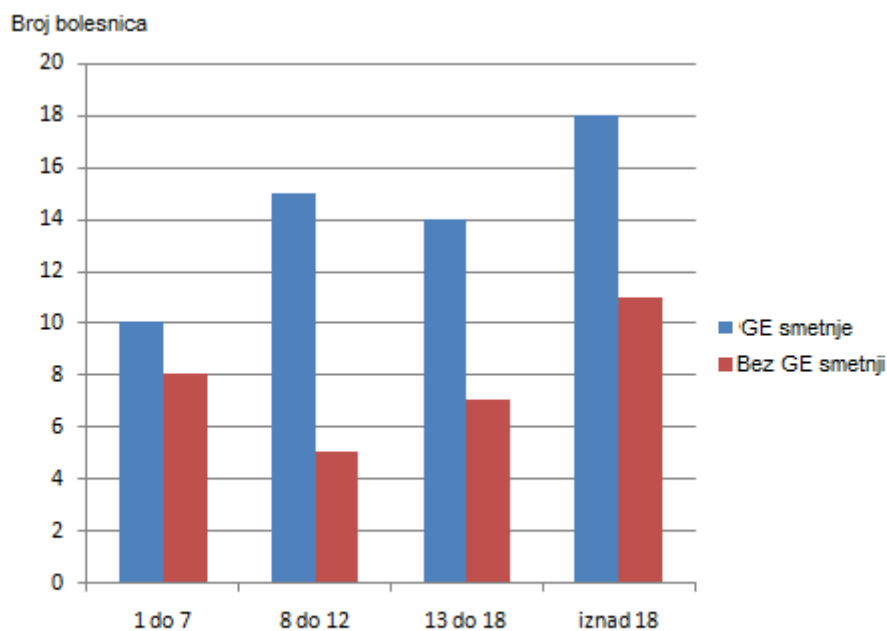




Slika IV.34. Z-skor indeksa telesne mase (ITM) u odnosu na prisustvo gastrointestinalnih smetnji

Medijana z-skora indeksa telesne mase (ITM) kod bolesnica sa GI smetnjama iznosila je -1,59, dok je kod bolesnica bez GI smetnji dobijena viša vrednost z-skora ITM od 0,56 (slika IV.34). Ova razlika nije dosegla nivo statističke značajnosti ( $Z -1,09$ ,  $p 0,276$ ). Perkutana gastrostoma je bila plasirana kod jedne pacijentkinje sa Retovim sindromom i teškom pothranjenošću.

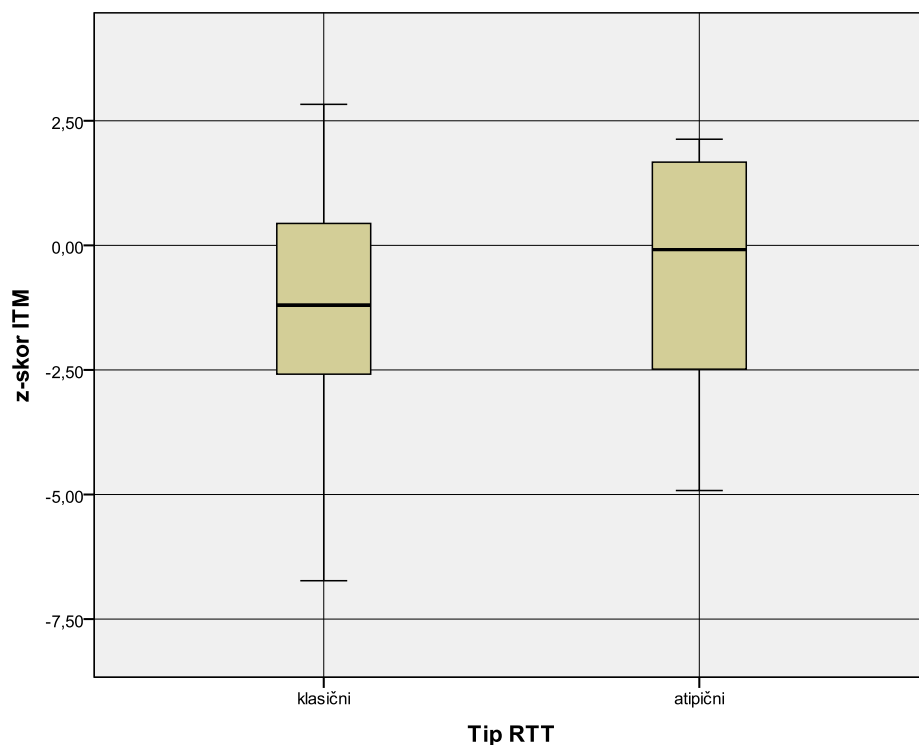
Nije bilo značajne statističke razlike u prisustvu GI smetnji između uzrasnih grupa bolesnica sa RTT ( $\chi^2 1,71$ ,  $p 0,63$ ) (slika IV.35).



Slika IV.35. Gastroenteralne (GE) smetnje po uzrasnim grupama bolesnica sa RTT

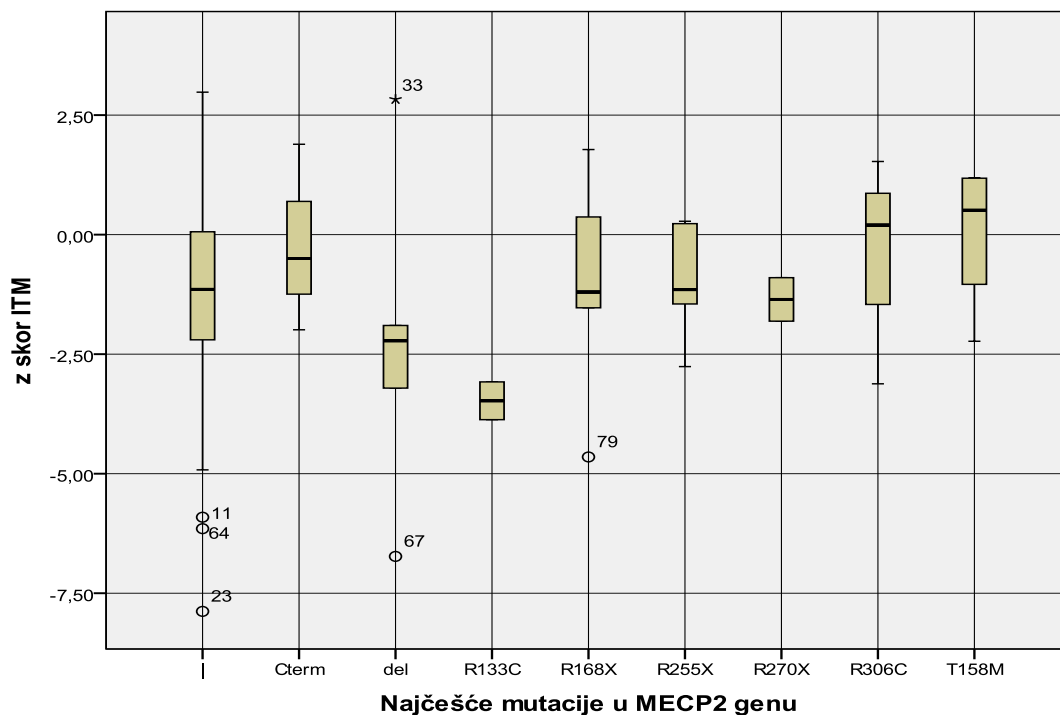
#### IV.3.5. Poremećaji telesnog rasta i razvoja kod obolelih od Retovog sindroma

Kod ispitivanih devojčica sa Retovim sindromom za koje smo imali detaljne podatke o rastu i razvoju (86,3% uzorka) ustanovljeno je da je prosečna vrednost z-skora indeksa telesne mase (ITM) iznosila  $-1,19 \pm 2,17$ . Medijana je iznosila  $-1,18$ . Kod bolesnica sa klasičnim RTT medijama z-skora ITM je iznosila  $-1,2$ , a kod atipičnog RTT  $-0,57$  (nije bilo značajne statističke razlike,  $Z -1,16$ ,  $p 0,248$ ) (slika IV.36.). Kod 30% je registrovana vrednost z-skora ITM ispod  $-2,0$  što odgovara pothranjenosti, dok je vrednost z-skora koja odgovara gojaznosti registrovana kod 4,5% ispitanih.



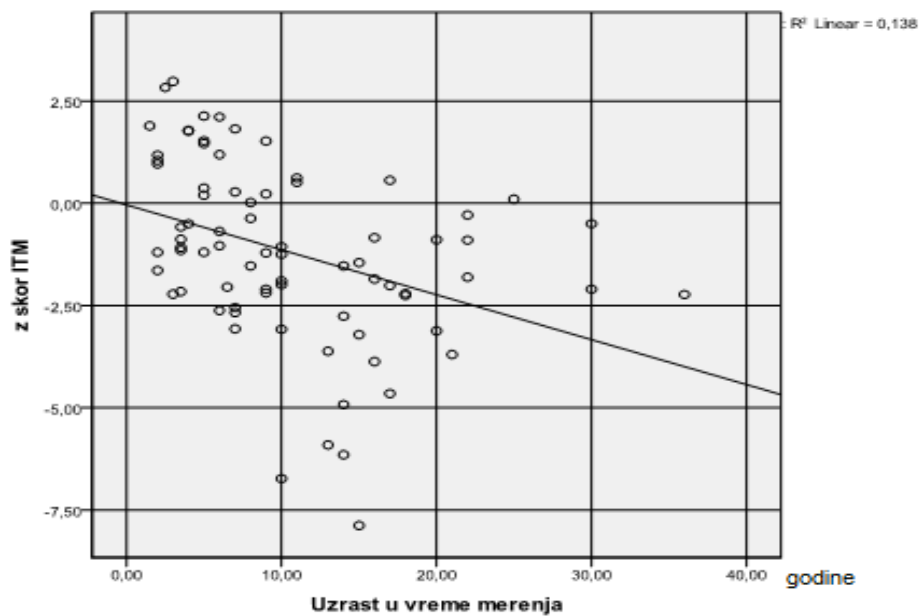
*Slika IV.36. Z-skor indeksa telesne mase kod bolesnica sa klasičnim i atipičnim RTT*

Nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima z-skora ITM između pacijenata u odnosu na vrstu mutacije u MECP2 genu (KW  $\chi^2 6,49$ ,  $p 0,484$ ). Ipak, opservirano je da su bolesnice sa mutacijom R133C i delecijama MECP2 gena imali najniži z-skor indeksa telesne mase (slika IV.37).



Slika IV.37. Z-skor indeksa telesne mase (ITM) u odnosu na mutacije u MECP2 genu

Postojala je statistički visoko značajna negativna korelacija između uzrasta u kome je vršeno antropometrijsko merenje i z-skora ITM kod bolesnica sa RTT (Pearson  $-0,372$ ,  $p$   $0,001$ ). Ova korelacija je predstavljena grafički na slici broj IV.38.



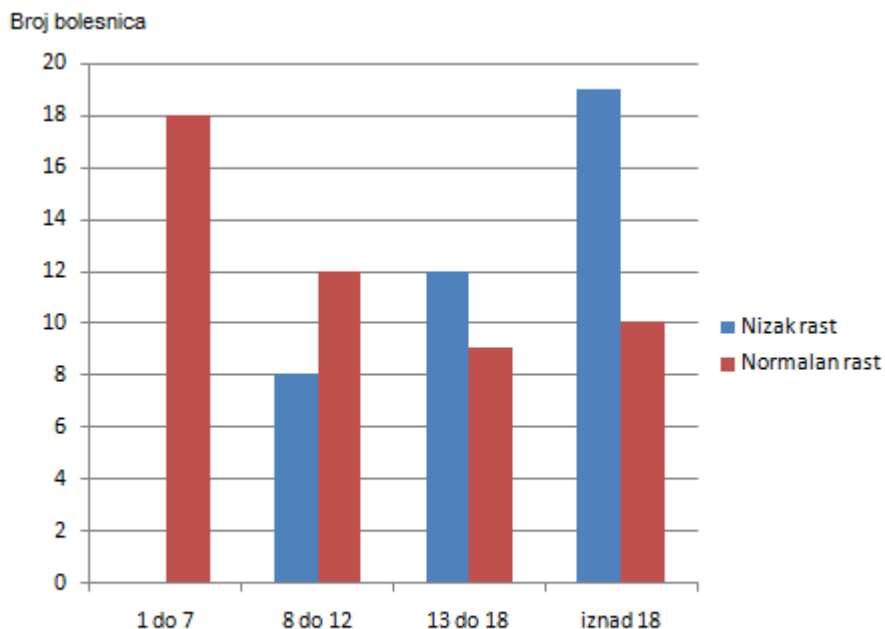
Slika IV.38. Korelacija između uzrasta i z-skora ITM

Takođe, postojala je statistički značajna negativna korelacija između z-skora ITM i skora kliničke težine bolesti CSS (Pearson -0,27, p 0,019).

Prosečna telesna masa (TM) na rođenju kod bolesnica sa RTT iznosila je 3205 grama, a telesna dužina (TD) na rođenju 51 cm što odgovara normalnim vrednostima. Nije bilo stastički značajne korelacije između ovih parametara i kasnijeg z-skora IMT kod RTT bolesnika (Pearson -0,16, p 0,41 za TM, Pearson -0,12, p 0,54 za TD).

U ispitivanom uzorku bolesnica sa RTT, kod 44,3% je bio prisutan nizak rast (ispod P3 u tablicama za visinu zdrave dece). Nije bilo statistički značajne razlike u prisustvu niskog rasta između bolesnica sa klasičnim i atipičnim RTT (Fisher, p 0,59).

Bila je prisutna statistički visoko značajna razlika u prisustvu niskog rasta između različitih uzrasnih grupa (Fisher, p 0,000) (slika IV.39)

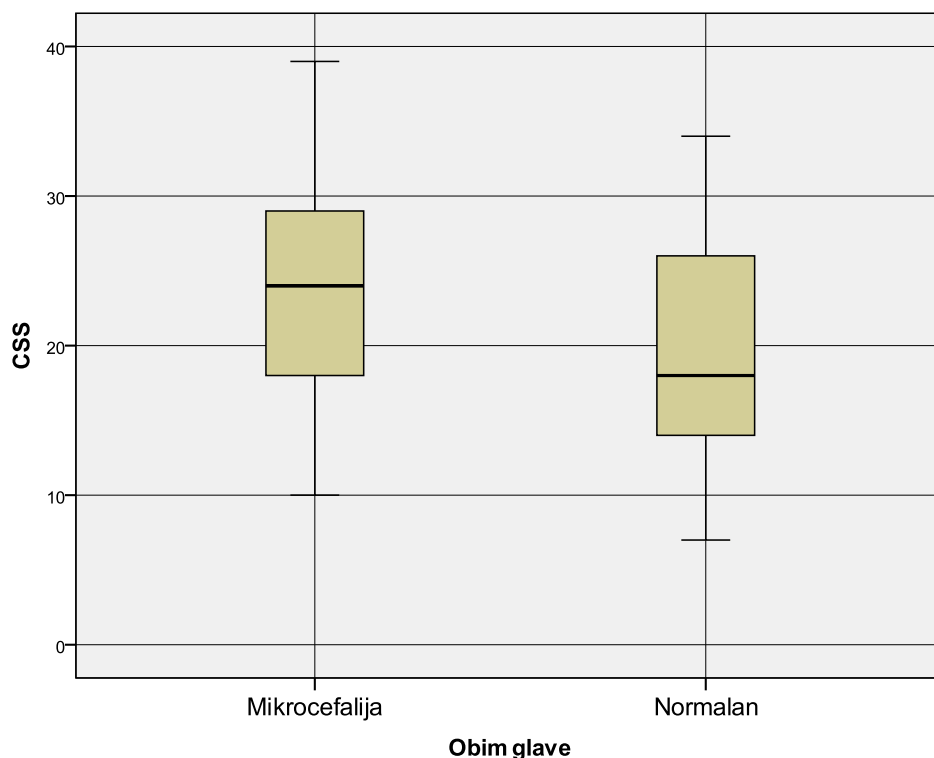


Slika IV.39. Zastupljenost niskog rasta po uzrasnim grupama bolesnica sa RTT

Nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti niskog rasta između pacijenata u odnosu na vrstu mutacije u MECP2 genu (Fisher, p 0,735). Opservirano je da su bolesnice sa mutacijama R133C, R255X i R270X u MECP2 gena imale viši procenat niskog rasta u odnosu na druge bolesnike.

Mikrocefalija (obim glave manje od drugog percentila za uzrast) je registrovan kod 76,1% ispitanih bolesnica. U poglavlju o rezultatima genotipsko-fenotipske korelacije opisana je asocijacija mikrocefalije sa određenim mutacijama sa marginalnom statističkom značajnošću. Prisustvo mikrocefalije nije uticalo na rizik za pojavu epilepsije ili za smrtni ishod ( $p = 0,282$ , odnosno  $p = 1,00$ ).

Skor CSS se značajno statistički razlikovao između bolesnica sa mikrocefalijom i onih koje su imale normalan obim glave ( $t = 2,45$ ,  $p = 0,016$ ) (slika IV.40)

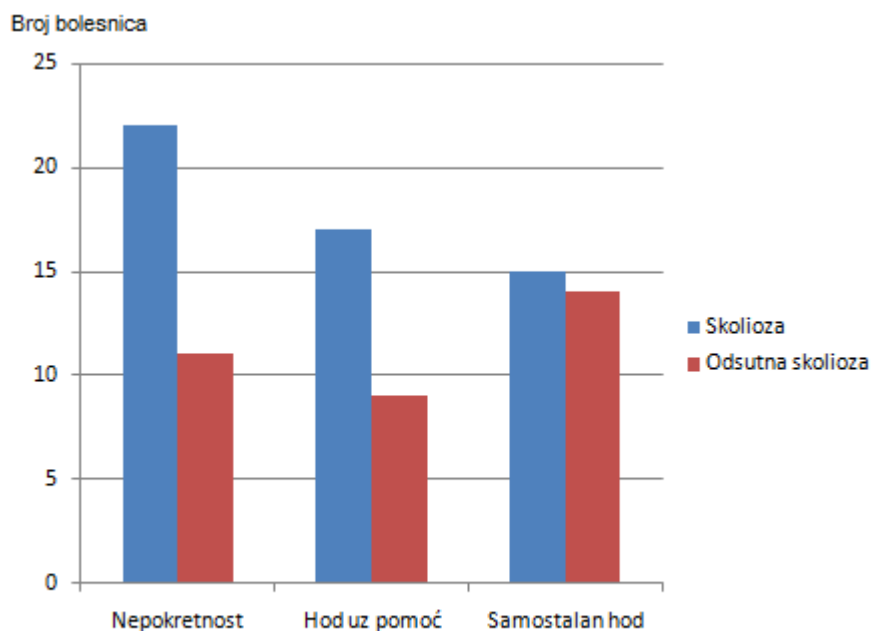


Slika IV.40. Skor CSS kod RTT bolesnica u odnosu na prisustvo mikrocefalije

Utvrđeno je takođe da se obim glave na rođenju nije statistički značajno razlikovao između devojčica sa RTT koje su u kasnijem toku razvile mikrocefaliju i onih čiji je obim glave ostao normalan ( $t = -1,345$ ,  $p = 0,185$ ). Prosečne vrednosti obima glave na rođenju kod devojčica koje su kasnije razvile mikrocefaliju je bio za 0,58 cm manji nego u drugoj grupi. Od ukupnog broja devojčica sa RTT, kod 24,5% je obim glave na rođenju bio manji od petog percentila.

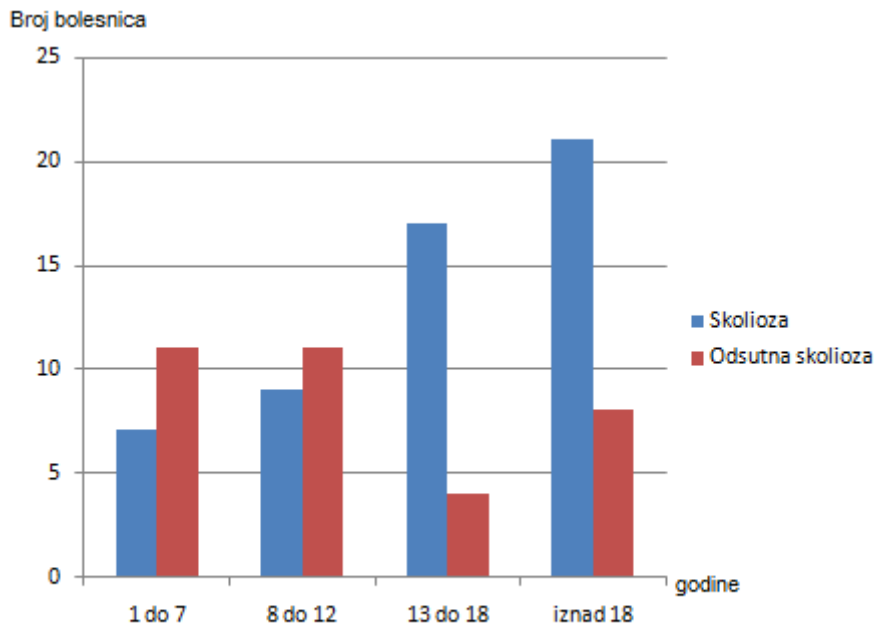
#### IV.3.6. Koštani poremećaji kod Retovog sindroma – rezultati

Skolioza je utvrđena kod 54 bolesnica (61,4%) u našoj grupi. Prevalencija skolioze je bila veća među bolesnicama koji su imale očuvanu sposobnost samostalnog kretanja, ali nije potvrđena statistička značajnost ove razlike ( $\chi^2$  1,71, p 0,438) (slika IV.41)



#### IV.41. Prevalencija skolioze u odnosu na pokretljivost bolesnica sa RTT

Utvdili smo statistički značajno veće prisustvo skolioze u starijim uzrasnim grupama (Fisher, p 0,011) (slika IV.42)



Slika IV.42. Zastupljenost skolioze u uzrasnim grupama bolesnica sa RTT

Koncentracija vitamina D u krvi i njegova relacija prema riziku za prelome kostiju ispitivana je kod 35 bolesnica sa RTT kojima je tokom 2012. godine utvrđen nivo vitamina D u krvi. U istom periodu su određeni i nivoi drugih biohemijskih parametara koštanog sistema: paratiroidnog hormona (PTH), alkalne fosfataze (ALF), kalcijuma i fosfora. Uzrast u ovoj podgrupi našeg uzorka je bio u rasponu od 30 meseci do 21 godine i 7 meseci, a medijana uzrasta je iznosila 138 meseci (IQR 82-204 meseci). Z-skor indeksa telesne mase (ITM) je imao medijanu od -1,15 (IQR -2,21-1,18) a vrednosti ispod -2.0 su registrovane kod 12 (34,3%) bolesnica. Molekularna dijagnostika je sprovedena kod svih bolesnica iz ove grupe a mutacije u MECP2 genu su potvrđene kod 25 (71,4%). Najčešće prisutne mutacije bile su R255X (6 bolesnica, 17,1% uzorka), R168X (4 bolesnice, 11,4%) i T158M (3 bolesnice, 8,6%), dok su druge mutacije zabeležene kod po jedne bolesnice iz grupe. Medijana vrednosti CSS je iznosila 18 (IQR 14-24). Jedanaest bolesnica nije moglo da se kreće (31,4%), 15 (42,9%) se kretalo uz pomoć druge osobe, dok je 9 bilo samostalno pokretno (25,7%).

Epilepsija je bila prisutna kod 23 (65,7%) bolesnica a antiepileptička terapija se aktuelno primenjivala kod 22 (62,9%). Medijana uzrasta u vreme prvog napada bila je 39 meseci (IQR 31-65 months), a medijana trajanja antiepileptičke terapije je bila 147 meseci

(IQR 66,5-205 meseci). Monoterapija se primenjivala kod 5 bolesnica, dva antiepileptika su primenjivana kod 9, tri leka kod 6 bolesnika a četiri leka kod 2 pacijentkinje. Valproat je bio najčešće primenjivani lek u ovoj podgrupi bolesnica sa RTT a nakon toga su po učestalosti sledili lamotrigin, karbamazepin i topiramot (16, 9, 6 i 4 pacijenta).

Serumska koncentracija 25(OH)D niža od 75 nmol/L je bila prisutna kod svih bolesnica sa RTT. Koncentracije u rasponu koji je odgovarao insuficijenciji vitamina D (50-75 nmol/L) bile su prisutne kod 4 (11,4%) bolesnice, dok je umerena deficijencija (25-50 nmol/L) pronađena kod 14 (40%). Teška deficijencija (<25 nmol/L) je ptkrivena kod 17 (48,6%) bolesnica. Medijana koncentracije 25(OH)D kod RTT je iznosila 26,25 nmol/L (IQR 17,3-34,5). Medijana koncentracije PTH u ovoj grupi je iznosila 44 ng/L (raspon 27,0-62,5) a medijana serumske koncentracije ALF iznosila je 151 IJ/L (IQR 123-176). Nijedna bolesnica nije imala ALF iznad gornje granice za uzrast, kod dve su vrednosti bile ispod granice za uzrast, dok je kod svih ostalih (33) koncentracija ALF bila uredna. Srednja vrednost serumske koncentracije kalcijuma iznosila je  $2,37 \pm 0,15$  mmol/L.

Insuficijencija vitamina D je bila prisutna kod 9/35 (25,7%) u kontrolnoj grupi, umerena deficijencija kod 14/35 (40%) a teška kod 6/35 (17,1%). Normalan status serumskog 25(OH)D je bio prisutan kod 6/35 (17,1%) ispitanika iz kontrolne grupe. Zastupljenost deficijencije 25(OH)D kod RTT bolesnica je bila značajno veća u odnosu na kontrolnu grupu ( $\chi^2=13,18$ ,  $p=0,004$ ). Medijana serumske koncentracije 25(OH)D u kontrolnoj grupi je iznosila 46.0 nmol/L (IQR 28,8-62,5 ) što je bilo značajno više nego kod RTT bolesnica ( $Z= -3,683$ ,  $p=0,000$ ). Koncentracija PTH je bila značajno niža kod ispitanika iz kontrolne grupe u odnosu na RTT pacijente ( $Z= -2,796$ ,  $p=0,000$ ). Razlike u srednjoj koncentraciji 25(OH)D između podgrupa RTT bolesnica baziranih na prisustvu epilepsije, vrsti antiepileptičkih lekova, istoriji preloma, prisustvu skolioze, z-skoru ITM i uzrast data je u tabeli IV.11. Niža koncentracija 25(OH)D u je zapažena kod bolesnica s pozitivnom anamnezom za epilepsiju i kod onih koje su imale frakturu u prošlosti. Nadalje, kod RTT bolesnica sa antikonvulzivnom terapijom značajna statistička razlika je opservirana u odnosu na to da li su bile na mono- ili politerapiji antiepilepticima.

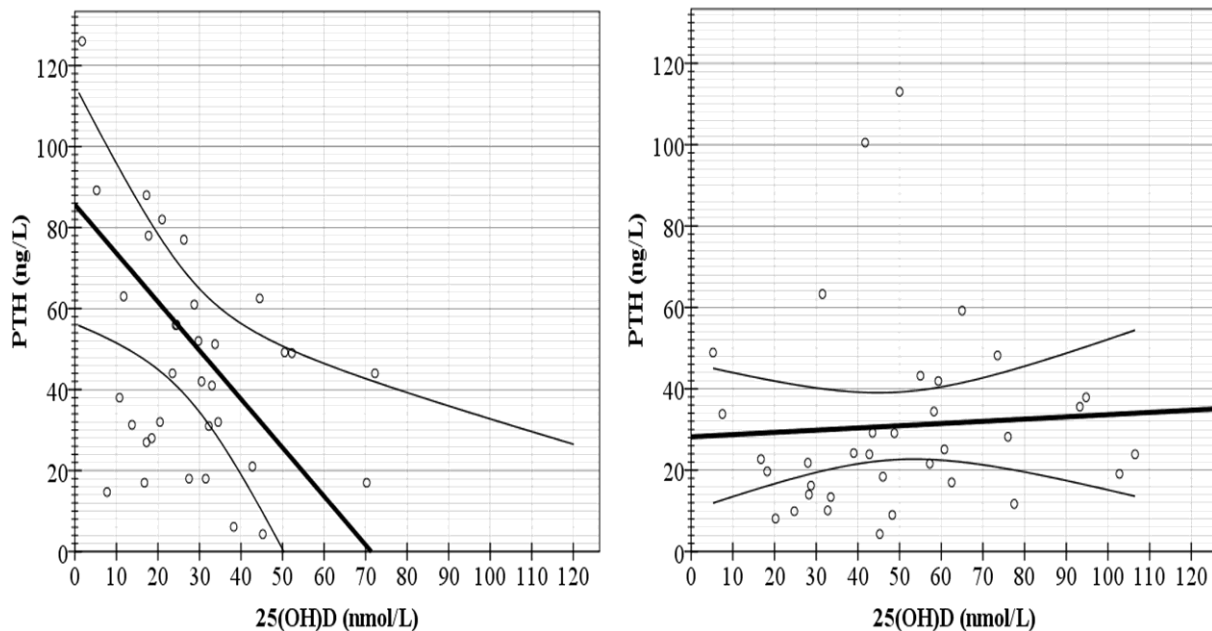


Tabela IV.11. Razlike u koncentraciji serumskog 25(OH) prema karakteristikama bolesnica sa RTT

Varijabla	N	Medijana serumskog 25(OH)D (nmol/L)	p (Mann-Whitney)
<i>Uzrast</i>			
≤18 godina	29	29,8	0,076
>18	6	17,5	
<i>z-skor ITM</i>			
<-2,0	10	23,5	0,713
≥ -2,0	25	25,1	
<i>Epilepsija</i>			
Da	23	24,3	<b>0,037</b>
Ne	12	36,4	
<i>Antiepileptička terapija</i>			
Monoterapija	5	29,8	<b>0,037</b>
Politerapija	17	17,8	
<i>Frakture</i>			
Da	6	14,3	<b>0,010</b>
Ne	29	29,8	
<i>Skolioza</i>			
Da	22	26,9	0,682
Ne	13	23,5	

Pokazali smo da tip MECP2 mutacije nije imao značajan uticaj na nivo vitamina D kod obolelih od RTT sindroma ( $H=2.93$ ,  $p=0.402$ ). Na serumski nivo 25(OH)D nije značajno uticao ni stepen pokretljivosti bolesnica ( $H=0.353$ ;  $p=0.838$ ), dok je broj antiepileptika u upotrebi imao značajan uticaj na prisustvo deficita vitamina D ( $H=12.05$ ;  $p=0.017$ ).

Značajna negativna korelacija je utvrđena između serumskih koncentracija 25(OH)D i PTH kod bolesnica sa RTT ( $\rho= -0.424$ ;  $p=0.011$ ) i predstavljena je na slici IV.43.A. Nasuprot tome, ovaj tip korelacije nije utvrđen u kontrolnoj grupi (slika IV.43.B,  $\rho= -0.059$ ;  $p=0.736$ ). Dalja analiza korelacije je pokazala da je niska vrednost koncentracije 25(OH)D bila povezana sa starijim uzrastom ispitivanih bolesnica sa RTT ( $\rho= -0.339$ ;  $p=0.046$ ); ovakva korelacija nije potvrđena u kontrolnoj grupi ( $\rho= 0.146$ ;  $p=0.402$ ). Takođe, nije bilo značajne korelacije između koncentracije 25(OH)D sa jedne strane i koncentracija ALF, kalcemije, CSS ili dužine antiepileptičke terapije. Koncentracija 25(OH)D se nije značajno razlikovala između bolesnica u odnosu na njihov stepen pokretljivosti ( $H=0.353$ ;  $p=0.838$ ).



Slika IV.43. A) Korelacija između koncentracije serumskog 25(OH)D i PTH kod obolelih od RTT i B) kod kontrolnih ispitanika

Uticaj antiepileptičke terapije na prisustvo teškog deficita vitamina D je prikazan u tabeli IV.12. Logistička regresija je potvrdila da je rizik za tešku deficijenciju vitamina D bio značajno povišen od bolesnica koje su istovremeno primale više antiepileptičkih lekova (tabela IV.13). Naime, pacijentkinje koje su koristile antiepileptičku politerapiju imale su 3,3 puta veću šansu da razviju težak deficit vitamina D u odnosu na pacijentkinje sa monoterapijom.

Tabela IV.12. Uticaj antiepileptika na prisustvo teške deficijencije vitamina D

	OR* (CI 95%)	$\chi^2$	p
Politerapija ( $\geq 2$ leka)	9.60 (0.85-108.72)	<b>4,09</b>	<b>0,043</b>
Karbamazepin	2.46 (0.30-15.63)	0,949	0,33
Lamotrigin	2.73 (0.56-13.37)	1,59	0,21
Valproat	1.77 (0.46-6.76)	0,69	0,40
Topirammat	3.64 (0.34-39.01)	1,26	0,26

Šest (17,1%) bolesnica iz ove subkohorte pacijenata sa RTT je imalo frakturu tokom života, a jedna od njih je imala dve frakture. Bolesnice sa istorijom preloma su činile 17,1% ispitivanog uzorka od 35. Najčešće se susretao prelom femura i radijusa (po 3). Prelomi su bili izazvani blagom ili umerenom traumom. Rizik za pojavu frakture do 12. godine je u ovoj podgrupi RTT bolesnica iznosio 35,3%. Svi pacijenti sa istorijom preloma su u vreme fraktura bili na antiepileptičkoj terapiji. Skolioza je bila pristuna kod 22 (62.9%) bolesnica.

Četiri frakture su se dogodile kod tri bolesnice sa R255X mutacijom koja je bila najčešća u našoj grupi. Nosioци R255X su imali statistički značajno viši rizik za prelom nego nosioци drugih mutacija ( $\chi^2=5,50$ ;  $p=0,019$ ). Rizik za frakturu za tri najčešće MECP2 mutacije u našem uzorku je predstavljen u tabeli IV.14. Analiza je pokazala da su devojčice sa RTT sa R255X mutacijom imale 8,67 puta veći rizik za frakturu kosti nego pacijenti sa drugim mutacijama. Logistička regresija je, međutim, pokazala da nijedan od ispitivanih parametara (z skor ITM, tip mutacije, prisustvo epilepsije, broj antiepileptika i serumska koncentracija 25(OH)D) nije značajno doprinosaо riziku za frakturu kod bolesnica sa RTT.

*Tabela IV.13. Rezultati logističkog regresionog modela za faktore rizika za tešku deficijenciju vitamina D*

Varijabla	B	SE	Sig	Exp(B)
CSS*	0,000	0,078	0,997	1,000
Mutation type	-0,442	0,429	0,303	0,643
Broj antiepileptika	1,197	0,548	<b>0,029</b>	3,311

\*Skor kliničke težine bolesti (Clinical Severity Score)

*Tabela IV.14. Mutacije u MECP2 genu kao faktor rizik za pojavu frakture kod obolelih od RTT*

Mutacija	OR* (CI 95%)	$\chi^2$	p
R255X	8,67 (1,18-63,87)	5,50	<b>0,02</b>
R168X	1,25 (0,11-13,67)	0,03	0,86
T158X	2,70 (0,20-35,75)	0,61	0,44

\*Odds ratio

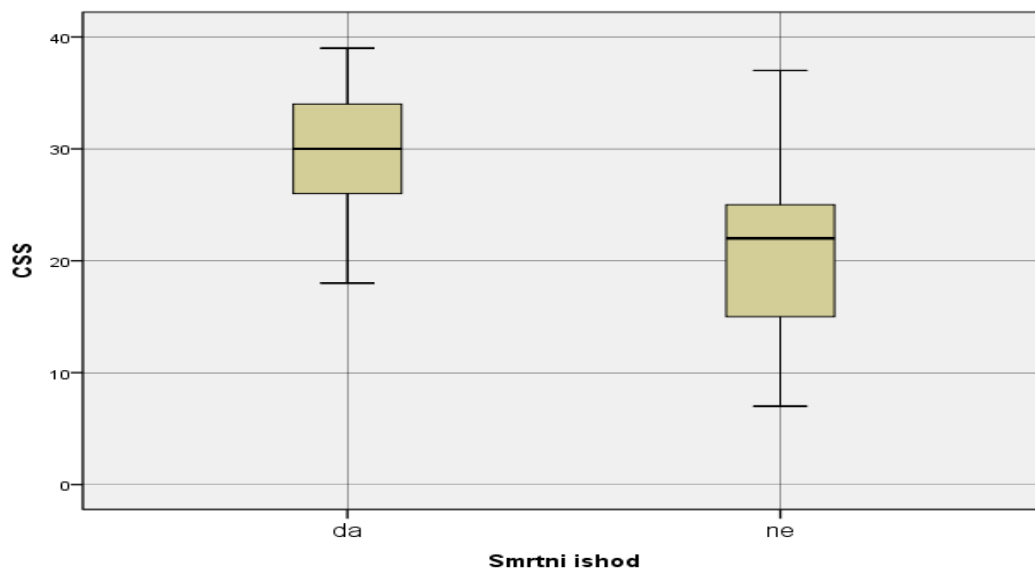
#### IV.3.7. Regresiona analiza faktora rizika za smrtni ishod kod Retovog sindroma

U logističku regresionu analizu faktora rizika za smrtni ishod kod bolesnica sa Retovim sindromom, uključeni su sledeći parametri: prisustvo epilepsije, prisustvo respiratornih poremećaja, prisustvo gastrointestinalnih tegoba, z-skor indeksa telesne mase (ITM), prisustvo mikrocefalije i klinički skor težine bolesti (*Clinical Severity Score*, CSS). Rezultati su predstavljeni u tabeli IV.15.

*Tabela IV.15. Logistički regresioni model za ispitivanje faktora rizika za smrtni ishod u RTT*

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
CSS	-,252	,070	12,942	1	,000	,777
z-skor ITM	,055	,177	,097	1	,755	1,057
Epilepsija	1,720	,924	3,467	1	,063	5,586
Respiratorni poremećaji	-,514	1,261	,166	1	,684	,598
GI poremećaji	-,827	,803	1,059	1	,303	,438
Mikrocefalija	-1,208	,867	1,942	1	,163	,299
Konstanta	9,048	2,507	13,029	1	,000	8503,32

Model je izdvojio skor CSS kao najsnažniji prognostički faktor rizika za smrtni ishod (p 0,000). Na slici broj IV.44. dat je prikaz vrednosti CSS kod RTT bolesnica sa i bez smrtnog ishoda.



*Slika IV.44. Skor CSS kod obolelih od RTT sa i bez smrtnog ishoda*

#### **IV.4. Rezultati ispitivanja kvaliteta života povezanog sa zdravljem (HRQoL) i depresije kod majki dece obolele od Retovog sindroma**

Demografske karakteristike 49 majki dece sa Retovim sindromom u kojih su ispitani kvalitet života povezan sa zdravljem (HRQoL) i depresivnost, prikazane su u tabeli broj IV.16. Godine majki su bile u rasponu od 22 do 55 godina, a njihove dece od 3 do 29 godina. Kod RTT bolesnica, srednja vrednost CSS skora je iznosila 21 (raspon od 10 do 39) sa 23 bolesnice (46.9%) koje su imale CSS ispod  $\leq 20$ .

Naše istraživanje je pokazalo da većina majki (53,2%) ima skorove BDI-II u nivou minimalne depresije, kod 8 (16,4%) su bili prisutni skorovi koji odgovaraju blagoj do umerenoj depresiji, dok je teška depresija bila prisutna kod 15 (30,6%) majki. Nadalje, pronađena je statistički značajna korelacija između CSS, BDI-II, godina majki i svih domena SF-36 (tabela IV.18). Uzrast pacijenata nije pokazao značajnu korelaciju prema CSS skor. CSS skor je imao statistički značajnu negativnu korelaciju sa svim SF-36 domenima i kompozitnim skorovima a najviše vrednosti koeficijenta korelacije dobijene su za VT, GH i kompozite skorove. Pokazana je visoka statistička značajnost za negativnu korelaciju između skorova BDI-II i SF-36 domena sa najvišim koeficijentima korelacije za SF, VT i PCS skorove. Majčine godine života su negativno korelirale sa svim SF-36 domenima i kompozitnim skorovima sa visokom statističkom značajnošću (najviše vrednosti koeficijenta korelacije za SF, PF, VT i PCS) (tabela IV.17).

Utvrđeno je da su najniži skorove imali sledeći domeni HRQoL: mentalno zdravlje ( $47,3 \pm 29,6$ ), vitalnost ( $43,6 \pm 27,8$ ) i emocionalna uloga ( $42,1 \pm 42,4$ ), ali se nijedan nije značajno razlikovao od standarda opšte populacije. Međutim, kada su upoređeni HRQoL između majki na bazi težine kliničke slike RTT u dece (CSS  $\leq 20$  i CSS  $> 20$ ) dobili smo značajno niže vrednosti MH, PF, PCS i TCS u grupi koja je brinula za teže bolesnu decu (tabela IV.17). Statistički značajno viši skor BDI-II (teža depresivnost) je dokazan kod majki koje brinu od deci sa težim oblikom bolesti (tabela IV.18).

Multivarijantna regresija je pokazala da su CSS i godine majke bili faktori koji su značajno uticali na depresiju i sve kompozitne skorove HRQoL prema SF-36. Isti model je pokazao da je nezaposlenost imala nepovoljan uticaj na depresiju u majki. (tabela IV.19).

*Tabela IV.16. Karakteristike majki dece sa RTT u kojih su ispitivani kvalitet života povezan sa zdravljem i depresija (N = 49)*

Varijabla	Vrednosti
Starost (godine)	37,5±7,5*
Bračni status	N (%)
U braku	41 (83,7%)
Razvedene	8 (16,3%)
Obrazovanje	N (%)
Osnovna škola	4 (8,2%)
Srednja škola	33 (67,3%)
Fakultet	12 (24,5%)
Mesto boravka	N (%)
Urbano	37 (75,5%)
Ruralno	12 (24,5%)
Zaposlenost	N (%)
Zaposlene	35 (71,4%)
Nezaposlene	14 (28,6%)
Porodični prihod	N (%)
Ispod proseka za Srbiju	19 (38,8%)
Iznad proseka za Srbiju	30 (61,2%)
Broj dece u porodici	N (%)
1	10 (20,4%)
≥2	39 (79,6%)

\*Srednja vrednost±standardna devijacija

*Tabela IV.17. Korelacija između osam domena i kompozitnih skorova kvaliteta života merenog SF-36 upitnikom i skora CSS, nivoa depresije (prema BDI-II) i starosti majki dece sa RTT*

	PF	RP	BP	GH	VT	SF	RE	MH	MCS	PCS	TCS
CSS	-0.35*	-0,39**	-0,34*	-0.42**	-0.52**	-0.34*	-0.41**	-0.48**	-44**	-46**	-44**
BDI-II	-0.74**	-0,69**	-0,84**	-0.83**	-0.89**	-0.90**	-0.73**	-0.86**	-86**	-90**	-88**
SM	-0.53**	-0,34*	-0,41**	-0.44**	-0.49**	-0.52**	-0.41**	-0.44**	-46**	-49**	-48**

Vrednosti su predstavljene Pearsonovim korelacionim koeficijentima; CSS, Klinički skor težine bolesti (Clinical Severity Score); BDI-II, Bekova skala depresije - II (Beck Depression Inventory – II); SM, starost majki; PF, fizičko funkcionisanje (physical functioning); RP, fizička uloga (role functioning physical); BP, telesni bol (bodily pain); GH, opšte zdravlje (general health); VT, vitalnost (vitality); SF, socijalno funkcionisanje (social functioning); RE, emocionalna uloga (role functioning emotional); MH, mentalno zdravlje



(mental health); MCS, mentalni kompozitni skor (mental composite score); PCS, fizički kompozitni skor (physical composite score); TCS, ukupni kompozitni skor (total composite SF-36 score); \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$

*Table IV.18. Srednje vrednosti skorova za SF-36 domene i kompozitne skorove kvaliteta života i skorove depresivnosti prema Bekovoj skali depresije II kod majki koje brinu od deci sa Retovim sindromom*

	Cela ispitivana grupa	CSS		t-test p vrednost
		≤20 (N = 23)	>20 (N = 26)	
BDI-II	17,0±13,3*	14,1±10,7	19,6±14,9	0,001
PF	73,1±27,4	79,1±20,9	67,7±31,5	0,001
RP	52,0±37,4	61,9±32,7	43,3±39,7	0,104
BP	51,5±32,9	57,1±29,9	46,5±35,2	0,421
GH	49,7±27,7	57,9±23,8	42,3±29,3	0,06
VT	43,6±27,8	53,5±22,8	34,8±29,3	0,089
SF	47,9±32,1	52,2±30,5	44,2±33,6	0,369
RE	42,1±42,4	55,0±40,9	30,7±41,0	0,73
MH	47,3±29,6	56,5±22,6	39,2±32,9	0,008
MCS	46,1±29,6	55,0±24,9	38,2±31,6	0,064
PCS	54,2±28,4	62,1±22,7	47,1±31,4	0,009
TCS	50,9±29,4	59,1±24,2	43,7±32,2	0,021

Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost±standardna devijacija. CSS, Klinički skor težine bolesti (Clinical Severity Score); BDI-II, Bekova skala depresije - II (Beck Depression Inventory – II); PF, fizičko funkcionisanje (physical functioning); RP, fizička uloga (role functioning physical); BP, telesni bol (bodily pain); GH, opšte zdravlje (general health); VT, vitalnost (vitality); SF, socijalno funkcionisanje (social functioning); RE, emocionalna uloga (role functioning emotional); MH, mentalno zdravlje (mental health); MCS, mentalni kompozitni skor (mental composite score); PCS, fizički kompozitni skor (physical composite score); TCS, ukupni kompozitni skor (total composite SF-36 score); \* $p < 0.05$

*Tabela IV.19. Prediktori kvaliteta života i depresije kod majki dece sa Retovim sindromom*

	$\beta$ koeficijent	p-value
<b>PCS</b>		
Starost majke	-1.803	0.001**
CSS	-1.164	0.040*
<b>MCS</b>		
Starost majke	-1.738	0.002**
CSS	-1.205	0.041*
<b>TCS</b>		
Starost majke	-1.817	0.002**
CSS	-1.171	0.049*
<b>BDI-II</b>		
Starost majke	1.034	0.000**
Zaposlenost majke	10.13	0.019*
CSS	0.509	0.034*

CSS, Clinical Severity Score; BDI-II, Beck Depression Inventory - II; MCS, mental composite score; PCS, physical composite score; TCS, total composite SF-36 score

CSS, Klinički skor težine bolesti (Clinical Severity Score); BDI-II, Bekova skala depresije - II (Beck Depression Inventory – II); MCS, mentalni kompozitni skor (mental composite score); PCS, fizički kompozitni skor (physical composite score); TCS, ukupni kompozitni skor (total composite SF-36 score); \*p<0.05; \*\*p<0.01

## V DISKUSIJA

### V.1. Epidemiologija Retovog sindroma

Incidencija i prevalencija Retovog sindroma u populaciji Srbije korespondiraju sa saopštenjima o epidemiologiji ove bolesti iz velikih svetskih studija (Leonard i sar, 1997; Hagberg i sar, 1997; Bienvenu i sar, 2006).

Incidencija Retovog sindroma u Srbiji koju smo utvdili tokom perioda od 1981. do 2010. se kretala na godišnjem nivou između 0,13:10000 živorođene dece ženskog pola u 1982. godini do najviše vrednosti od 2,85:10000 u 2005 godini. Zapažena je veća varijabilnost godišnje incidencije u odnosu na dugotrajnu francusku studiju (Bienvenu i sar, 2006) koja daje podatak o najnižoj godišnjoj incidenciji od 0,431:10000 živorođene dece ženskog pola u 1990. godini do 0,707:10000 u 1997. godini. Procena incidencije Retovog sindroma za dvanaestogodišnji period u Francuskoj od 0,578:10000 živorođene dece ženskog pola gotovo je identična našoj proceni incidencije za tridesetogodišnji period od 0,586:10000 živorođene ženske dece. Opservirane varijacije u godišnjoj incidenciji mogu se barem delimično objasniti činjenicom da su ratne okolnosti u našoj zemlji dovele do izvesnih demografskih nepotpunosti kao što je na primer odsustvo pokazatelja o vitalnoj statistici iz južne srpske pokrajine Kosova i Metohije za veći deo perioda posle 1998. godine.

Prevalencija RTT u našoj sredini ukazuje da se Srbija može smatrati jednom od zemalja sa višom prevalencijom ove bolesti s obzirom da se viša prevalencija od srpske opisuje samo u Norveškoj, a približna u Švedskoj i Škotskoj (Hagberg i sar, 1997; Skjeldal i sar, 1997; Kerr i sar, 1986). Zabeležena prevalencija u Srbiji (1,19:10000 devojčica) nešto je veća od one koju su opisali istraživači iz SAD, Japana, Australije, Estonije, Švajcarske, Hong Konga i još nekih zemalja za koje su podaci dati u uvodu ovog rada.

Dobijeni rezultati incidencije i prevalencije govore, ipak, da prisustvo RTT u Srbiji nije ekstremno visoko kao u pojedinim endemskim sredinama (Norveška, Severna Italija), te da bi visoka dijagnostička incidencija mogla biti posledica dobre informisanosti pedijatara o problemu RTT. Kada se, međutim, upoređi prevalencija RTT u Srbiji izražena na 10000 žena bez obzira na uzrast, dobija se podatak da je ovako izračunata prevalencija znatno niža (0,22:10000). U Australiji je prevalencija RTT na 10000 žena trostruko veća nego u Srbiji (Laurvick i sar, 2006). Dobijeni nalaz može se povezati sa višim letalitetom bolesnica sa RTT u Srbiji nego u Australiji, što je dalja analiza i potvrdila. Važno je reći da nedostaju studije epidemiologije RTT iz zemalja istočne Evrope, bivše Jugoslavije kao i drugih sredina iz bližeg geografskog okruženja. Stoga, nije poznato da li je relativno visoka incidencija RTT u Srbiji prisutna i u drugim slovenskim zemljama. Zapažena je tendencija (Bienvenu i sar, 2006) da novija istraživanja epidemiologije RTT pokazuju višu incidenciju nego istraživanja koja potiču iz devedesetih godina prošlog veka, kao što je npr. teksaška studija (Kozinetz i sar, 1993.). Ova pojava se objašnjava prodorom u molekularnoj dijagnostici RTT koji je ostvaren otkrićem mutacija u MECP2 genu 1999. godine. Slično je zapažanje Laurvicka i sar. iz 2006. godine koji značajan doprinos bržem dijagnostikovanju RTT pridaju i uspostavljanju nacionalnog registra za ovu bolest u Australiji (*Australian Rett Syndrome Database - ARSD*) 1993. godine. Ista australijska studija navodi posebnu vrednost molekularne dijagnostike kod bolesnica mlađih od 5 godina, pre nego što se razvije puni "Retov fenotip" (Laurvick i sar, 2006). Ipak, i dalje se kod značajnog procenta bolesnica koji zadovoljavaju kliničke kriterijume ne otkrivaju mutacije u MECP2 genu, naročito kod atipičnih oblika. U nekim slučajevima, atipični oblici RTT mogu ostati neprepoznati ako je mutacija u MECP2 genu negativna. Sa unapređenjem molekularne dijagnostike atipičnog RTT u našoj sredini (uvođenje molekularnih analiza na CDKL5 gen, FOXP1 gen i netrin G1 gen) može se očekivati dodatno povećanje broja novootkrivenih bolesnika sa RTT.

Statistički region u Republici Srbiji koji se izdvaja sa najvišom prevalencijom RTT je Beograd (1,68:10000 devojčica do 19 godina), a najnižu prevalenciju je imao region Južne i Istočne Srbije (0,54:10000 devojčica do 19 godina). Ipak, prevalencija opisana u Beogradu ne dostiže nivo prevalencije endemskih područja za RTT u svetu. Nedostaju studije koje bi upoređivale prevalenciju RTT između visokourbanih sredina i onih sredina sa manjom

gustinom naseljenosti, tako da ovaj nalaz nije mogao da se komparira sa drugim istraživanjima.

Specifičnost populacione statistike u Republici Srbiji je nedostatak podataka o vitalnoj statistici iz južne srpske pokrajine Kosova i Metohije. U našoj grupi bolesnica sa RTT bile su četiri sa Kosova i Metohije, ali prevalenciju za taj deo naše zemlje nije bilo moguće utvrditi.

U našoj studiji, medijana uzrasta u kome je postavljena dijagnoza iznosila je 30 meseci. U velikim studijama baziranim na nacionalnim registrima dobijeni su podaci o kasnijem prosečnom uzrastu postavljanja dijagnoze. Tako, u australijskoj studiji prosečan uzrast u vreme dijagnoze je iznosio 5,3 godine (Laurvick i sar, 2006), a u holandsko-belgijskoj studiji iznosio je 7,8 godina (Halbach i sar, 2012). Slično našim rezultatima, australijski istraživači su opisali trend da se dijagnoza RTT postavlja značajno ranije tokom prethodne decenije u odnosu na period pre toga. U našem radu, povezanost između godine rođenja i uzrasta postavljanja dijagnoze dodatno je ilustrovana statistički značajnom korelacijom, što nije korišćeno u drugim istraživanjima.

Udeo klasičnog oblika RTT od 86% među bolesnicama iz Srbije veći je nego što se opisuje u drugim studijama, kao npr. u australijskoj (67%), holandsko-belgijskoj (80%), kao i brazilskoj studiji (70,8%) (Pozzi i sar, 2003.). U našem istraživanju nije bilo statistički značajne razlike u uzrastu postavljanja dijagnoze za pacijente sa klasičnim u odnosu na pacijente sa atipičnim RTT. Nasuprot tome, Pozzi i saradnici su pokazali da se u Brazilu dijagnoza postavljala u statistički značajno ranijem uzrastu kod bolesnica sa klasičnim RTT (5,5 godina u odnosu na 9 godina kod atipičnog RTT). Genotipski profil i genotipsko-fenotipska korelacija ispitivanoj grupi su detaljno diskutovani u posebnom poglavlju.

Najčešći uzrok hitnih ili, uopšte, neelektivnih hospitalizacija u ispitivanoj grupi pacijenatkinja sa RTT bila je epilepsija. Kod većine se radilo o epileptičkom statusu (10 bolesnica), a gotovo podjednako često se radilo o povećanoj frekvenciji napada (9 bolesnica). Na drugom mestu uzroka hospitalizacije našle su se infekcije donjih disajnih puteva. Druge studije Retovog sindroma nisu dale najčešće uzroke hospitalizacije u RTT, te se naš rezultat ne može komparirati.

Poremećaji ishrane koji su dovodili do pothranjenosti su bili među pet najčešćih uzroka hospitalizacija u našoj studiji. Ako se ima u vidu podatak da 92% obolelih od RTT ima gastrointestinalne smetnje, 40-50% poremećaj telesnog rasta i razvoja, te da čak 25%

pacijentkinja u SAD ima indikaciju za plasiranje perkutane gastrostome, jasno je da ovaj aspekt bolesti čini važan deo morbiditeta u RTT (Motil i sar, 2012).

Srednji uzrast smrtnog ishoda u švedskoj studiji RTT je bio 24 godine, a u austrijsko-australijskoj studiji 16 godina i 9 meseci (Berg i sar, 2001; Freilinger i sar, 2010). U našoj grupi srednja vrednost uzrasta smrtnog ishoda je iznosila  $13,95 \pm 6,76$  godina (medijana 13 godina). Letalitet od 18% opisan u švedskoj studiji i od 12,05% u austrijsko-australijskoj su bili u skladu sa našim rezultatom letaliteta od 18,6% za celu grupu. Smrtni ishod se po Freilingeru i saradnicima dešavao u širokom rasponu od 22. meseca i 33. godine što je slično rasponu dobijenom u našoj studiji (od 4. do 24. godine). Analize preživljavanja su pokazale da je u Australiji do 10. godine preživelo 98% bolesnica, a do 25. godine 77,8%; u Teksasu je do 20. godine preživljavalo 94% (Kozinetz i sar, 1993). U Hong Kongu do 10. godine života nije registrovan nijedan smrtni ishod kod pacijentkinja sa RTT (Wong i sar, 2007). U našoj grupi je preživljavanje do 12. godine iznosilo 89% dok posle 24. godine nije bilo nijednog smrtnog ishoda. Ovaj podatak ukazuje na veću ranu smrtnost od RTT u našoj sredini u odnosu na razvijene zemlje.

Uzroci smrti koji su opservirani u našoj grupi bolesnica sa RTT odgovaraju nalazima drugih studija koje ukazuju na respiratornu patologiju kao glavnog uzroka smrtnosti u RTT. Freilinger i saradnici (2010.) navode aspiraciju kao uzrok smrti najvećeg broja bolesnika sa RTT, a pneumoniju kao drugi vodeći uzrok. U studiji Laurvicka i sar., pneumonija je bila uzrok 40% smrtnih ishoda kod RTT. U našoj studiji pneumonija se opisuje kao najčešći uzrok smrti ovih pacijentkinja. Na osnovu anamnestičkih podataka, može se zaključiti da su neke od umrlih bolesnica imale aspiracionu pneumoniju. Takođe, pneumonija je, posle epilepsije, najčešći uzrok hospitalizacije koji smo registrovali. Iz toga sledi da se aspiracija, rekurentne pneumonije i hronična respiratorna insuficijencija kod RTT mogu razmatrati kao jedinstven kompleks respiratornih poremećaja koji značajno ugrožavaju i skraćuju život ovih pacijenata. Entitet pneumopatije specifične za RTT čije uvođenje predlažu italijanski istraživači i dalje se diferencijalno-dijagnostički teško može razlučiti od sindroma hronične aspiracije.

Nagla smrt se u nekim studijama navodi kao uzrok 26% smrtnih ishoda kod RTT (Kerr i sar, 1997). Kao mogući uzroci nagle smrti u RTT navode se poremećaji funkcije autonomnih centara u moždanom stablu (koji rezultiraju apnejom, srčanim aritmijama i sl.), ali i poremećaji mikroanatomije konduktivnog sistema srca kao predisponirajući faktor za letalne

srčane aritmije. Visok procenat dece sa gastroezofagusnim refluksom kod RTT je jedan od faktora koji bi potencijalno mogao uticati na visoku stopu nagle smrti.

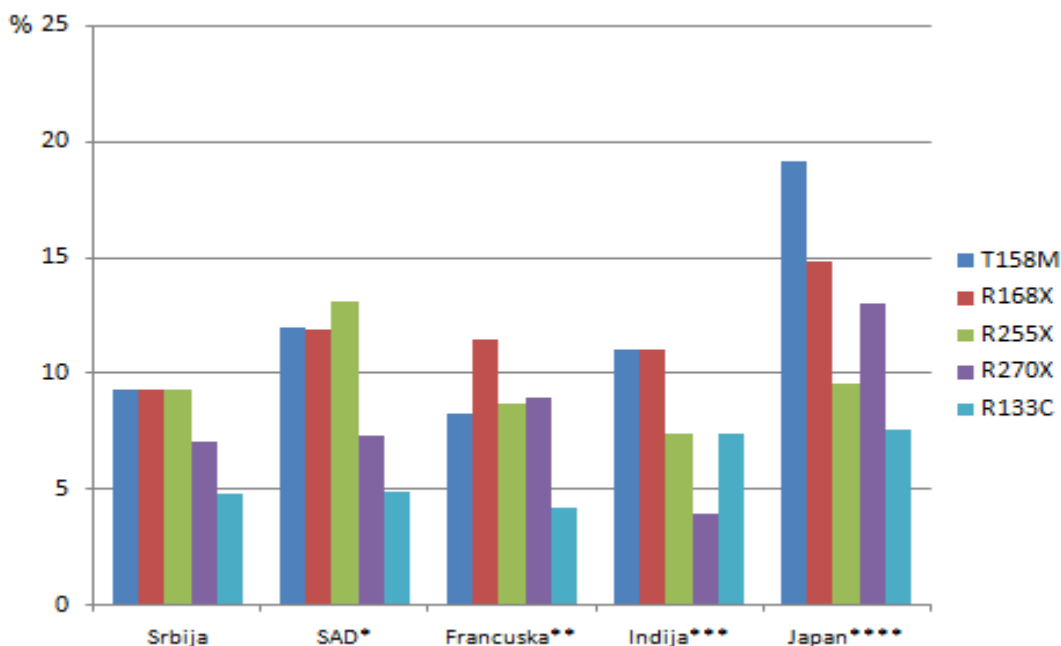
U većini populacija Retov sindrom se navodi kao drugi po učestalosti među naslednim uzrocima mentalne retardacije u devojčica. Osim toga, mutacije u MECP2 genu se otkrivaju kod dečaka sa mentalnom retardacijom nepoznate etiologije u jednakom procentu kao i fragilni X sindrom (naročito u porodicama sa X-vezanim obrascem nasleđivanja mentalne retardacije). U švedskoj i francuskoj populaciji, a prema našim rezultatima i u srpskoj, incidencija RTT je veća od incidencije fenilketonurije za koju se sprovodi program novorođenačkog skrininga. Može se spekulirati da bi u budućnosti, u slučaju otkrića efikasne terapije za RTT i povoljnog skrining metoda, moglo biti razmatrano i uvođenje neonatalnog skrininga za ovu bolest (Bienvenu i sar, 2006).

## **V.2. Molekularna epidemiologija i genotipska-fenotipska korelacija u Retovom sindromu**

Opažanje da je MECP2 mutacija bila prisutna kod 77,8% ispitanica u našem uzorku u najvećoj meri korespondiraju sa rezultatima ranijih studija. Tako je u grčkoj populaciji bolesnica sa RTT prisustvo MECP2 dokazano kod 70% (Psoni i sar, 2012), u Japanu kod 66,2% (Fukuda i sar, 2005) a u velikoj Francuskoj studiji (Philippe i sar, 2006) zabeležena je nešto veća pozitivnost MECP2 mutacije od 80%.

Veće prisustvo MECP2 mutacije kod bolesnica sa klasičnim RTT u odnosu na atipični oblik je verifikovano u našoj studiji sa visokom statističkom značajnošću. Naime, kod bolesnica klasičnog RTT mutacija u MECP2 genu je bila prisutna kod 84,4%, a kod atipičnog RTT dokazana je u 44,4% bolesnica. Veoma slične nalaze saopštili su i istraživači iz Japana (kod klasičnog RTT mutacije u MECP2 su prisutne u 87,8%, a kod atipičnog u 34,1% ispitanih). Zastupljenost MECP2 mutacija kod 46,2% bolesnica sa atipičnim RTT otkrivena je u Kini (Li i sar, 2006.). Veću učestalost MECP2 mutacija kod klasičnog u odnosu na atipični RTT opisali su i nemački i britanski istraživači (Huppke i sar, 2002; Cheadle i sar, 2000). Sa usavršavanjem molekularne dijagnostičke tehnologije porastao je procenat bolesnica sa klasičnim RTT pozitivnih na MECP2 mutacije, tako da su kasnije studije saopštile kako čak 95-97% ovih bolesnica imaju patološke promene u MECP2 genu (Neul i sar, 2008; Bienvenu i sar, 2006).

U srpskoj populaciji pacijentkinja sa RTT, najveću prevalenciju su imale mutacije T158M, R168X, R255X. Dobijeni podatak je, takođe, u skladu sa rezultatima genotipskog profila RTT u drugim, čak i geografski veoma udaljenim zemljama. Tako se, na primer, i u Indiji najčešće susreću mutacije T158M i R168X (po 11%) (Das i sar, 2013), dok se mutacija R255X sa 7,4% deli treću poziciju po učestalosti sa mutacijom R133C (po 7,4%). Mutacije T158M i R168X su najzastupljenije i među RTT pacijentima u Japanu (19,8%, odnosno 14,8%) (Fukuda i sar, 2005). Odnos profila mutacija dobijenog u našoj studiji sa podacima drugih istraživača dat je na slici V.1.



Slika V.1. Odnos profila mutacija između naše studije i profila mutacija MECP2 kod RTT bolesnica iz različitih sredina (\*Neul i sar, 2008; \*\*Philippe i sar, 2006; \*\*\*Das i sar, 2013; \*\*\*\*Fukuda i sar; 2005)

Sličan profil mutacija kao u Srbiji dobijen je i u hrvatskoj studiji koja je pokazala najveću učestalost mutacija T158M i R168X (Matijević i sar, 2006). U hrvatskoj populaciji RTT pacijenata R133C je bila nešto češće zastupljena nego u našoj, ali je potrebno napomenuti da je studija Matijevića i sar obuhvatila relativno mali broj pacijenata da bi se doneo definitivni zaključak.



U velikoj studiji Neula i saradnika sprovedenoj u SAD, tri najčešće registrovane mutacije su bile R255X (13,1%), T158M (12,2%) i R168X (11,9%). Upravo ove tri mutacije su bile najzastupljenije i u našoj grupi pacijenata (po 9,3%) (Neul i sar, 2008).

Poznato je da kod Retovog sindroma postoji osam najčešćih mutacija i neka od njih se pronalazi kod dve trećine obolelih (Neul i sar, 2008.). Halbach i saradnici opisuju da je čak 79% imalo jednu od sledećih osam mutacija: R133C, P152R, T158M, R168X, R255X, R270X, R294X, R306C, uz dodatak mutacija u C-terminalnom regionu. U našoj grupi, 66,7% ispitanika je imalo jednu od osam mutacija ili mutaciju u C-terminalnom domenu, što odgovara podacima iz literature.

Postoji izvesna diskrepanca između saopštenja o tome kako odsustvo MECP2 mutacije kod bolesnica sa kliničkim kriterijumima za RTT utiče na težinu kliničkih manifestacija. Dok američki istraživači pokazuju da MECP2 negativne bolesnice sa RTT imaju više skorove težine kliničke slike (Neul i sar, 2008), suprotan rezultat daju grčki istraživači (Psoni i sar, 2012). Skor CSS kod RTT bolesnica sa prisutnom mutacijom u MECP2 genu se nije statistički značajno razlikovao od skora kod bolesnica negativnih na MECP2 mutacije.

Više studija je ispitivalo uticaj pojedinačnih mutacija na kliničke manifestacije putem analize skorova težine kliničke slike specifičnih za RTT. Tako su Neul i saradnici pokazali da su najviše vrednosti CSS (najteža bolest) bili prisutni kod nosilaca mutacije R168X i delecija u genu MECP2. Sličan rezultat je dobijen u velikoj holandsko-belgijskoj studiji sa visokim ISS skorom kod nosilaca mutacije R168X, R255X, R270X i T158M, dok najtežu bolest opisuju kod bolesnica sa mutacijom P152R. Još jedna grupa takođe opisuje P152R kao prediktora najteže kliničke slike RTT (Kondo i sar, 2002). U našoj grupi pacijenata samo jedna bolesnica je imala P152R mutaciju, a kod nje je registrovan nizak CSS skor (15), epilepsija je bila odsutna, ali je imala rani početak regresije i diskretne abnormalnosti razvoja u prvih šest meseci života. U grčkoj grupi je takođe opisano da R168X mutacija ima povezanost sa težom kliničkom formom bolesti. Statistička analiza u našoj grupi pokazala je odsustvo statistički značajne razlike u CSS skoru između različitih mutacija, kao i između grupa mutacija formiranih na osnovu pozicije unutar gena i tipa promene. Međutim, uočljivo je da je CSS skor bio najviši kod nosilaca mutacija R133C ( $29,0 \pm 2,83$ ), R168X ( $26,2 \pm 11,3$ ), T158M ( $23,2 \pm 11,5$ ) i R255X ( $23,2 \pm 5,17$ ). Psoni i saradnici su takođe opisali R133C i R168X

kao mutacije povezane sa najtežom kliničkom slikom, iako se R133C uobičajeno smatra jednom od "blažih" mutacija.

Mutacija R270X se u nekim populacijama opisuje kao nosilac teške kliničke slike (Bebbington i sar) a poznata je i njena udruženost sa mikrocefalijom u 78% slučajeva (Halbach i sar). U našoj sredini, mutacija R270X je ustanovljena kod 3 pacijenta i mikrocefalija je bila prisutna kod jednog (33%); osim toga, CSS skor od  $20,0 \pm 4,36$  je svrstao ovu mutaciju u grupu povezanu sa blažom kliničkom slikom.

Opažanje da se mutacije u regionu MECP2 gena koji kodira nuklearni signalni deo (TRD NLS region) susreću kod težih kliničkih fenotipova nije potvrđen našom studijom. Mutacije u TRD-NLS regionu nisu se statistički značajno razlikovale od mutacija u drugim delovima MECP2 gena po pitanju CSS skora. Osim toga, CSS skor za nosioce mutacija u MBD i interdomenskom regionu bio je nešto viši od onog za TRD-NLS region.

Očuvanost sposobosti govora najbolje je dokumentovana za mutaciju R133C (Zappela i sar, 2003; Leonard i sar, 2003)., a isto zapažanje donosi i naša studija. Naime nosioci R133C, R306C i C-terminalne mutacija su u većini imali očuvane makar minimalne govorne funkcije (nekoliko reči ili fraza); govor je bio odsutan kod svih bolesnica sa mutacijama R270X, R168X i MECP2 delecija. Razlika među mutacijama u našoj grupi po pitanju govora je dostigla marginalnu statističku značajnost prema Fišerovom testu egzaktne verovatnoće ( $p < 0,051$ ). Za razliku od Neulove studije, mutacija R306C u našoj grupi nije bila udružena sa teškim oštećenjem govornih sposobnosti. Statistička značajnost je opservirana i za rezultat po kome se kasniji početak tipičnih stereotipija šake javljao kod nosilaca mutacija R133C i C-terminalnih mutacija, što dodatno doprinosi kvalifikovanju ovih mutacija kao potencijalno „blagih“.

Utvrdili smo i da nosioci R168X mutacije statistički značajno češće imaju normalan rani razvoj (tokom prvih šest meseci) u odnosu na druge pacijente, ali i raniji početak regresije što je u skladu sa rezultatima drugih studija (Halbach i sar.).

Genotipsko-fenotipska korelacija u odnosu na vreme pojavljivanja i težinu ispoljavanja epilepsije dijagnostikovana je u posebnom poglavlju. Ipak, ponovićemo da je čak 80% bolesnica sa mutacijama u TRD-NLS i interdomenskom regionu imalo epilepsiju što je pokazalo marginalnu statističku značajnost.

Uticaoj određenih mutacija u MECP2 genu na fenotip, odnosno težinu kliničke slike i prisustvo pojedinih kliničkih manifestacija RTT, predmet je istraživanja mnogih studija. Naša studija daje doprinos proučavanju genotipsko-fenotipske korelacije s obzirom na ekstenzivnost kliničkih i epidemioloških podataka koji su prikupljeni. Ipak, s obzirom na relativno mali broj pacijenata sa pojedinim mutacijama koji smo opservirali, kao što je npr. slučaj sa R133C, P152R i R294X, ima prostora za dodatna ispitivanja genotipsko fenotipske korelacije kod većeg broja srpskih pacijenata sa RTT u budućnosti.

### **V.3 Klinička slika Retovog sindroma**

#### **V.3.1. Neurorazvojni aspekt Retovog sindroma**

U našoj studiji je podatak o poremećaju ranog razvoja (prvih 6 meseci života) dobijen za 29 bolesnica (32,9%), a kod najvećeg broja se radilo o hipotoniji; u manjoj meri su bili zastupljeni smanjena zainteresovanost za okolinu i poremećen obrazac sna. U australijskoj studiji ranog razvoja kod devojčica sa RTT (na bazi nacionalnog registra) dobijeno je da je čak 58% RTT bolesnica imalo uočljiv rani razvojni poremećaj (Leonard i sar, 2005). U brazilskoj studiji (Pozzi i sar, 2003) su dobijeni podaci sličniji našoj studiji sa 22% dece koja već u prvih 6 meseci imaju znake razvojnog poremećaja, u najvećem procentu hipotoniju. Studija izvedena u Japanu (Nomura i sar, 2005), pokazala je da su najraniji znaci RTT koji se mogu uočiti u ranom odojačkom periodu: smanjena zainteresovanost za okolinu, trunkalna hipotonija i poremećaj sna koji je potvrđen polisomnografskim snimanjem. Pretpostavlja se da rani poremećaj sna (koji je opserviran kod 2 bolesnice iz naše grupe) nastaje usled serotoninergičke i noradrenergičke disfunkcije na nivou moždanog stabla kao ranog znaka zastoja u moždanom sazrevanju.

Stereotipije ruku su jedna od glavnih karakteristika RTT i deo su obaveznih dijagnostičkih kriterijuma za ovu bolest. Stereotipije kod RTT su obično male amplitude, ali nekada mogu uključivati čak i pokreta trupa (Dan i Cheron, 2008). Mogu se javiti kao jednoručni ili dvoručni pokrete “hranjenja”, trljanja, tapšanja, stezanja, ceđenja i dr. U našoj studiji, sve bolesnice su imale više ili manje izražene stereotipne pokrete. Ovakav nalaz je u saglasnosti sa drugim studijama: holandsko-belgijska grupa opisuje stereotipije kod 96% (Hasbach i sar), brazilska (Pozzi i sar, 2003) i kineska studija kod 100% obolelih (Bao i sar,

2013), dok indijska studija navodi da je 90% dece sa RTT imalo stereotipne pokrete (Das i sar, 2013).

Podatak da smo početak regresije najčešće uočavali u uzrastu između 18 i 24 meseca, a ređe posle 24. meseca, uporedili smo sa rezultatima drugih velikih studija, kao npr. holandsko-belgijske grupe; u navedenoj studiji je opserviran srednji uzrast početka regresije u 14. mesecu što je nešto ranije nego kod naših bolesnica. Halbach i sar. opisuju značajno raniju regresiju kod bolesnica sa mutacijom R168X. U analizi genotipsko-fenotipske korelacije dobili smo rezultat da se uzrast početka regresije nije razlikovao između bolesnica u odnosu na tip mutacije u MECP2 genu, ali je mutacija R168X bila jedna od 3 sa najranijim početkom regresije. U brazilskoj studiji je opisana statistički značajna razlika u uzrastu početka regresije između pacijenata sa klasičnim i atipičnim RTT, dok u našim rezultatima ovakva razlika nije potvrđena (Pozzi i sar, 2003).

Sposobnost hoda bolesnica iz naše grupe korespondirala je sa rezultatima drugih studija. Halbach i saradnici opisuju praktično isti profil sposobnosti za kretanje kao kod bolesnica iz Srbije: trećina holandsko-belgijskih pacijentkinja se kreće samostalno, 24% uz pomoć, a 44 je nepokretno. Bolju sposobnost hoda kod nosilaca mutacije R306C koja je opisana u radu Schanen i saradnika (2003), nismo mogli da potvrdimo sa statističkom značajnošću, ali treba navesti da su sve tri pacijentkinje u našoj grupi sa ovom mutacijom bile pokretne (dve samostalno, a jedna uz asistenciju druge osobe). Zapažanje da je smanjena pokretljivost bolesnica faktor rizika za smrtni ishod je u skladu sa nalazom Freilingera i saradnika iz 2010. da 32 od 40 umrlih u njihovom uzorku nikada nije imalo sposobnost samostalnog hoda.

### V.3.2. Epilepsija u Retovom sindromu

U našem uzorku bolesnica sa Retovim sindromom epilepsija je bila prisutna kod 62 (70,5%). U odnosu na rezultate drugih studija, prevalencije epilepsije u srpskoj populaciji devojčica sa Retovim sindromom ne odstupa značajno. Veoma sličan podatak o učestalosti epilepsije u RTT daje studija bazirana na izraelskom Nacionalnom registru za Retov sindrom (Nissenkorn i sar, 2010). U našoj studiji je zapažena veća prevalencija epilepsije u RTT nego u velikim multicentričnim studijama iz SAD, Kine i Australije (Glaze i sar, 2010; Bao i sar, 2013). Podaci iz Slovenije i Švedske upućuju na veću prevalenciju epilepsije, od 84% do 90%

(Kranjc i sar; Steffenburg i sar, 2001). Veća prevalencija u nekim sredinama se može objasniti genotipskim profilom, ali i subjektivnim elementom u diferencijalnoj dijagnostici epileptičkih u odnosu na neepileptičke paroksizmalne fenomene u RTT.

Srednja vrednost uzrasta u vreme prvog napada u našoj populaciji je iznosila 45,1 mesec a medijana je iznosila 36 meseci; početak epilepsije je zabeležen u širokom rasponu uzrasta, od 2. meseca do 21 godine i 10 meseci. Dobijeni podaci korespondiraju sa rezultatima drugih istraživanja. Slično studiji Glazea i saradnika koja je pokazala da preko 50% bolesnika sa RTT razvije epilepsiju do kraja pete godine života, u našoj grupi je ova stopa bila 59,1%. Prema slovenačkoj studiji, 44% je razvilo epilepsiju do 3. godine, dok smo mi zapazili prevalenciju epilepsije od 37,5% u istom uzrastu (Krajnc i sar, 2011). Izraelski istraživači (Lotan i sar, 2011) su opisali pik u vremenu pojavljivanja epilepsije od druge do pete godine života, a isto zapažanje proizilazi iz našeg istraživanja.

Australijska studija je opisala najveću prisustvo aktivne epilepsije u uzrasnoj grupi od 7. do 12. godine, dok je velika kinesko-australijska studija ukazala da je uzrasna grupa sa najvećim opterećenjem epilepsijom (54%) bila od 12. do 17. godine (Bao i sar, 2013). Slično recentnim rezultatima Baoa i u našoj studiji je dobijena najveća prevalencija epilepsije u uzrastu od 13. do 18. godine, ali je opažena prevalencija kod nas bila znatno viša (85,7%).

Dve najveće studije epilepsije u RTT do sada nisu dale podatke o semiologiji registrovanih napada (Glaze i sar, 2010; Bao i sar, 2013), opravdavajući ovaj nedostatak istraživanja teškoćama u identifikaciji tipa napada na osnovu anamneze. Stav Baoa i saradnika je da bi video-elektroencefalografija bila neophodan preduslov za egzaktnu prospektivnu studiju ovog tipa. Nekoliko manjih studija daje, međutim, podatke o tipu napada koji su konzistentni između različitih istraživača. Naime, švedska studija ukazuje na parcijalne kompleksne napade kao dominantne kod RTT sa 62% zastupljenosti među bolesnicima sa epilepsijom, dok Witt-Engerstrom i saradnici opisuju takođe parcijalne komplekse ali i generalizovane toničko-kloničke napade kao najčešće kod RTT (Witt-Engerstrom i sar, 1992). Naša grupa bolesnica sa epilepsijom imala je sličan obrazac napada, sa dominacijom parcijalnih kompleksnih (58,1%) i generalizovanih toničko-kloničkih napada (64,5%), a značajno manjom zastupljenošću prostih parcijalnih, toničkih, atoničkih, miokloničkih i napada po tipu atipičnih apsansa. U preglednom radu Dolce i sar, opisuje se obrazac semiologije napada u RTT koji korespondira sa našim rezultatima.

Prema saopštenju studije koju je sprovedla Mreže za kliničke studije retkih bolesti (Rare Disease Clinical Research Network), učestalost epilepsije je bila gotovo istovetna kod obolelih od klasičnog i atipičnog RTT (60% prema 61%; Glaze i sar, 2010). Druge velike studije (Bao i sar, 2013; Jian 2013) nisu dali podatke o eventualnim razlikama između prisustva epilepsije kod različitih formi Retovog sindrom, a i u preglednom radu Dolce i saradnika (2013.) ovom pitanju se ne posvećuje pažnja. U našoj studiji, slično rezultatima Glaze i saradnika iz 2010., nema značajne razlike u prisustvu epilepsije između bolesnica sa klasičnim i atipičnim RTT, mada je nešto veća prevalencija zapažena u grupi sa atipičnim RTT (71,4% u odnosu na 67% kod klasičnog). U našoj grupi, devet pacijenata sa atipičnim Retovim sindromom je imalo epilepsiju, a 55,5% od tog broja je bilo negativno mutacije u genu MECP2. Kod jedne pacijentkinje sa atipičnim RTT i ranim početkom konvulzivnih napada (u drugom mesecu života), sprovedena je molekularna dijagnostika u u genu za ciklin zavistan kinazi sličan protein 5 (CDKL5) i dokazana je patološka mutacija. Među pacijentima sa atipičnim RTT u našoj grupi bio je prisutan raniji početak epilepsije nego kod klasičnog oblika, ali njihove druge karakteristike nisu odgovarale kliničkoj slici koju izazivaju mutacije u genima CDKL5 ili FOXG1.

Mutacije T158M i R168X su najprevalentnije mutacije u MECP2 genu u većini kohorti, kako je već navedeno u uvodu rada. U našoj grupi su takođe bile najzastupljenije a dosadašnje studije opisuju upravo ove mutacije kao faktor rizika za pojavu epilepsije kod obolelih od RTT. Refrakternost epilepsija je prisutna kod 74% nosilaca T158M (Buoni i sar, 2008). Za odnos epilepsije i mutacije R255X, koja je jedna od najprisutnijih u našoj grupi, postoje oprečni izveštaji. Dok je Bao i sar smatraju visoko rizičnom za epilepsiju, drugi istraživači (Glaze i sar, 2010; Jian i sar 2007) je navode kao mutaciju povezani sa nižim rizikom. U našoj grupi od 88 bolesnica molekularno testiranje je sprovedeno kod 55 bolesnika. U MECP2 genu je do sada opisano više od 300 mutacija, od čega na 8 najčešćih otpada oko 60%; otuda, broj pacijenata sa pojedinim mutacijama u našoj studiji nije dovoljan za izvlačenje čvrstih zaključaka. Ipak, opaženo je da je mutacija R270X udružena sa 100%-tnim prisustvom epilepsije (5/5), što korespondira sa rezultatima velikih studija. S druge strane, opazili smo manju prevalenciju epilepsije kod nosilaca T158M (60%) i delecije u MECP2 genu (60%) nego što je bilo očekivano. Opservirali smo i veću učestalost epilepsije kod nosilaca R306C i C-terminalnih mutacija nego što je bilo očekivano.

Poznato je takođe da mutacije u regionu MBD i TRD-NLS gena MECP2, kao i velike delecije, nose rizik za teži oblik epilepsije, dok nosioci mutacija u C-terminalnom regionu imaju niži rizik i kasnije javljanje epilepsije. Slično zapažanje o visokoj učestalosti epilepsije (80%) kod nosilaca mutacije u TRD-NLS regionu MECP2 donosi i naša studija, ali bez statističke značajnosti.

Odnos genotipa i epileptičkih manifestacija u RTT do sada nije u potpunosti razjašnjen. Nalazi nekolicine studije koje su se bavile ovim problemom su u nekim aspektima oprečni, a većina istraživača zaključuje da po pitanju epilepsije nema definisane genotipsko-fenotipske korelacije (Dolce i sar, 2013). Ipak, mutacije R168X, R255X, T158M i R270X koje multicentrična kinesko-australijska studija prepoznaje kao faktor rizika za pojavu i teži oblik epilepsije, i u našoj studiji su udružene sa višom prevalencijom epilepsije (Bao i sar, 2013).

Trenutna istraživanja genetičke osnove epilepsije u Retovom sindromu usmerena su ka identifikovanju novih genskih lokusa čije promene modifikuju efekte uzročne mutacije. Tako je utvrđeno da su određeni polimorfizmi u BDNF genu povezani sa epilepsijom u RTT. Gen BDNF je jedan od target gena za MECP2; povećanje aktivnosti BDNF gena kod MECP2 mutantnih miševa ublažava tegobe bolesti. Prisustvo Val/Val polimorfizma je prisutno kod 20% opšte populacije, a kod RTT je udruženo sa smanjenom ukupnom težinom kliničke slike i kasnijim početkom epilepsije, naročito kod devojčica sa R168X mutacijom (Ben Zeev i sar, 2009). Važno je pomenuti i da je ovaj polimorfizam bio jedini parametar koji je uticao na vreme početka epilepsije u navedenoj izraelskoj kohorti bolesnika sa RTT, bez obzira na tip mutacije. Ovi rezultati su osporeni od strane francuske grupe istraživača, a potvrđeni u italijanskoj studiji bolesnika sa Zappella varijantom RTT (Dolce i sar, 2013).

Kao klinički faktori rizika za pojavu epilepsije u RTT do sada su opisivani rana pojava razvojnih problema i težak poremećaj kretanja (Jian i sar), visoke vrednosti skorova težine kliničke slike (Glaze i sar, 2010) i obim glave (Steffenburg i sar, 2001). U našoj studiji nijedan od navedenih parametara se nije pokazao kao faktor rizika za pojavu ili težinu epilepsije. Osim toga, statistička značajnost u prevalenciji epilepsije nije postojala ni između bolesnika sa ili bez poremećaja sna, autoagresije i poremećaja disanja, a ovi parametri nisu bili testirani u drugim studijama.

Najčešće korišćeni antiepileptici u našem uzorku bolesnika sa RTT i epilepsijom bili su valproat, karbamazepin i lamotrigin. Ova tri leka su najčešće korišćeni lekovi u epilepsiji

kod RTT u većini drugih centara. Upotreba monoterapije kod 39% bolesnika korespondira sa rezultatima slovenačke (44%) i američke studije (37%) (Krajnc i sar, 2011, Glaze i sar, 2010). Politerapija sa 3 i više lekova, međutim, retka je u SAD (8%), dok se u Sloveniji koristi kod 16% RTT bolesnika sa epilepsijom što je znatno približnije principima terapije u nas (politerapija kod 22%). Nešto viša zastupljenost politerapije u našoj praksi nego u SAD u skladu je sa višom prevalencijom epilepsije i mlađim uzrastom ispitivanog uzorka (sa starenjem kod RTT dolazi do parcijalne ili kompletne remisije epilepsije).

### V.3.3. Respiratorni poremećaji u Retovom sindromu

Disajne abnormalnosti u Retovom sindromu su zbog svoje velike prevalencije svrstane u dijagnostičke kriterijume za RTT kao pomoćni kriterijum (Neul i sar, 2010). Javljaju se usled poremećenog sazrevanja autonomnih centara moždanog stabla. Najizraženije su u III stadijumu bolesti (Smeets i sar, 2012). Brazilska studija je pokazala prisustvo disajnih neregularnosti kod dve trećine ispitanog uzorka, sa približno jednakom zastupljenošću kod klasičnog i atipičnog RTT (Pozzi i sar, 2003). Neki istraživači smatraju da su respiratorne manifestacije po tipu zadržavanja vazduha (breath holding spells) i apnoične krize element kliničke slike koji ima najviše uticaja na svakodnevni kvalitet života bolesnika (Smeets i sar, 2005). U našoj grupi je takođe uočena visoka prevalencija respiratornih poremećaja (89,8% bolesnika), koja se nije značajno razlikovala prema tipu RTT (klasični u odnosu na atipični), tip mutacije i prisustvo smrtnog ishoda (ali treba pomenuti da su kod svih pacijentkinja sa smrtnih ishodom bile prisutne iregularnosti disanja tokom evolucije kliničke slike iako ovaj nalaz nije imao statističku značajnost).

Saopštenje Lotan i saradnika (2006) ukazuje da 84% obolelih od RTT imaju neku od disajnih abnormalnosti kao što su apneja, hiperventilacija, zadržavanje daha, aerofagija, najčešće u tipu III bolesti. Naši nalazi korespondiraju sa navedenim rezultatima.

Polisomnografska ispitivanja su pokazala da su respiratorne manifestacije RTT zavisne od stanja budnosti, i da su više izražene u budnom stanju (Weese-Mayer i sar, 2008). Naša studija nije analizirala respiratorne poremećaje u kontekstu budnosti jer polisomnografsko snimanje nije obavljeno kod dovoljnog broja ispitanica. Dijagnostika ovog tipa dala bi znatno pouzdanije podatke o ovom aspektu RTT u odnosu na anamnestički pristup.

U našoj studiji nije analizirana mogućnost postojanja hronične pneumopatije specifične za Retov sindrom. U studiji Felice i saradnika koji su predložili postojanje ovog



entiteta, korišćena je visokorezolutivna kompjuterizovana tomografija pluća kao metod za procenu eventualnih strukturalnih promena u plućima. Kod naših bolesnica je tokom elektivnih i hitnih hospitalizacija, kao dijagnostički metod za ispitivanje respiratornog trakta najčešće korišćena standardna radiografija pluća; zbog nedovoljne specifičnosti i senzitivnosti ove metode nismo bili u mogućnosti da adekvatno kompariramo naše nalaze sa rezultatima italijanskih istraživača.

Disajni poremećaji koji su specifični za Retov sindrom (hiperventilacija, zadržavanje vazduha, aerofagija, iregularnost disanja, apneja i sl) delimično su objašnjeni neurofiziološkim istraživanjima; poremećaj funkcija moždanog stabla se u nekima od njih karakteriše i kao “oluja moždanog stabla” (eng. brainstem storm) ili “epilepsija moždanog stabla” s obzirom na abnormalnu spontanu aktivnost u ovom delu mozga koja je vremenski asocirana sa kliničkim ispoljavanjem disajnih abnormalnosti (Julu i sar, 2001). Međutim, navedeni poremećaji respiratornog ritma nisu neposredno učestvovali u uzrocima hospitalizacije RTT u našoj grupi. Među respiratornim uzrocima hospitalizacije najvažnija je pneumonija koja se izdvaja i kao glavni uzrok smrtnosti devojčica sa RTT u Srbiji. Poremećaj regulacije disanja na nivou moždanog stabla udružen sa disregulacijom gutanja, svakako je mogao indirektno doprineti visokom morbiditetu i mortalitetu od pneumonije u ispitivanoj grupi. Vredno je zapažanje da su sve devojčice sa smrtnim ishodom u našoj grupi tokom evolucije bolesti imale respiratorne abnormalnosti tipične za RTT, ali statistička značajnost nije dokazana.

#### V.3.4. Poremećaji gastrointestinalnih funkcija i uhranjenosti u Retovom sindromu

Tokom prethodnih nekoliko godina počinje da se pojavljuje sve veći broj istraživanja gastroenteroloških aspekata Retovog sindroma. Naime, ovaj problem je dugo bio zanemaren i smatran sekundarnim u odnosu na neurološku regresiju, epilepsiju i poremećaje disanja. Naša studija je ukazala da su hronične gastrointestinalne (GI) manifestacije RTT bile prisutne kod 57 (64,8%) bolesnica. Najčešće se radilo o konstipaciji, dok su u manjoj meri bile zastupljene ostale manifestacije (otežano žvakanje, hipersalivacija, gastroezofagealni refluks – GER, poremećaj gutanja). U najdetaljnijoj studiji gastrointestinalnih manifestacija RTT do sada, Motil i saradnici (2012) opisuju veću učestalost GI smetnji kod američkih bolesnica: teškoće u hranjenju kod 81%, opstipaciju kod 80%, GER kod 39%, anoreksiju kod 38%.

U brazilskoj studiji (Schwartzman i sar, 2008) navode jednako visok procenat GI smetnji, naročito konstipacije (74,1%). Niža prevalencija GI smetnji u našim rezultatima

najverovatnije je posledica nedovoljnog obraćanja pažnje na ovaj aspekt bolesti u ranijim godinama i decenijama, te veoma oskudnih anamnestičkih podataka GI smetnjama. Značajan deo našeg retrospektivnog istraživanja baziran je na uvidu u medicinsku dokumentaciju, pogotovo kada se radi o umrlim pacijentkinjama ili onima koje retko dolaze na kontrole. Stoga, može se smatrati da su GI tegobe u našoj populaciji obolelih od RTT na znatno višem nivou od registrovane, pogotovo ako se ima u vidu visoka prevalencija pothranjenosti naših bolesnika. Naime, pomenute studije (Motil i sar, 2012; Schwartzman i sar, 2008) saopštavaju gotovo identičnu prevalenciju pohranjenosti od 37 do 38%, dok je u našoj studiji prevalencija z-skora indeksa telesne mase približna (30,7%). Prevalencija niskog rasta koju smo opservirali (44,3%) u potpunosti je korespondirala sa rezultatima Motil (45%) i Schwartzmana (48,1%). U drugoj studiji teksaške grupe (Motil i sar, 2009), plasiranje perkutane gastrostome je dovelo do značajnog poboljšanja uhranjenosti bolesnika sa RTT i teškim nutritivnim poremećajem. U našoj sredini plasiranje perkutanje gastrostome još uvek nije sprovedeno kod dovoljnog broja bolesnika da bi se komparirali rezultati.

#### IV.3.5. Koštani poremećaji kod Retovog sindroma

Tokom prethodne decenije bilo je nekoliko studija koje su pokazale da su bolesnici sa RTT skloni deficitu vitamina D (Gonnelli i sar, 2008; Roende i sar, 2011; Motil i sar, 2011). Navedena istraživanja su pokazala da su serumske koncentracije 25(OH)D manje od 75 nmol/L bile prisutne kod 50 do 60% bolesnika sa RTT. Težak deficit vitamina D (25(OH)D < 50 nmol/L) je opisan od strane Gonnellija kod više od 20% bolesnika sa RTT u Italiji. Naši rezultati ukazuju na višu prevalenciju deficijencije vitamina D kod bolesnika sa RTT u Srbiji nego u drugim studijama, s obzirom na činjenicu su svi naši pacijenti imali serumski 25(OH)D ispod 75 nmol/L dok je gotovo polovina (48.6%) imala tešku deficijenciju vitamina D.

Kod pacijenata u našoj grupi, u vreme testiranja na serumski nivo vitamina D, nijedan bolesnik nije dobijao redovnu suplementaciju ovim vitaminom. S druge strane, u studiji Motil i sar., multivitaminski preparati koji su sadržali i vitamin D korišćeni su kod 40% bolesnika sa RTT; ista studija je pokazala da su vrednosti serumskog 25(OH)D ispod 50 nmol/L bile prisutne kod svega 20% ispitanih. Stoga, izuzetno visoka prevalencija deficijencije vitamina D u našoj grupi bolesnika sa RTT može barem delimično biti objašnjena činjenicom da niti

jedna od pacijentkinja nije dobijala suplementaciju vitaminom D. Preparate vitamina D nisu dobijale ni pacijentkinje iz kontrolne grupe u kojoj je bilo 6 (17,1%) sa nalazom teške deficijencije. Osim toga, nivo 25(OH)D je bio niži kod bolesnika sa RTT nego u kontrolnoj grupi što ukazuje da su, pored nutricije i antiepileptika, na nivo vitamina D uticale i same karakteristike Retovog sindroma.

Nedavna danska studija je pokazala da je koncentracija 25(OH)D bila niža kod pacijenata sa RTT nego kod zdrave dece tokom letnjih meseci, a da razlika nije bila značajna ukoliko je uzorkovanje vršeno tokom zime (Roende i sar, 2011). Ovakva sezonska varijacija je objašnjena nedovoljnim izlaganjem suncu pacijenata sa RTT tokom leta. Kod bolesnika u našoj studiji nivo vitamina D je određivan tokom letnjih i jesenjih meseci. Nismo imali objektivnih načina da kvantifikujemo izlaganje sunčevoj svetlosti u periodu pre uzorkovanja krvi, ali se može pretpostaviti da su bolesnice sa RTT manje izloženi sunčevim zracima zbog težine njihove kliničke slike. Mogući efekti socijalne stigmatiziranosti, naročito za one sa teškim hendikepom, nisu utvrđivani u našoj studiji te se i uticaj ovog faktora ne može isključiti.

Studija italijanskih istraživača je pokazala niže vrednosti serumskog 25(OH)D kod devojčica sa RTT uzrasta od 2-21 godine u odnosu na kontrolnu grupu sastavljenu od zdravih osoba (Cepollaro i sar, 2001). Srednja vrednost serumskog 25(OH)D kod devojčica sa RTT u ovoj studiji je iznosila  $25.0 \pm 18.25$  nmol/L što je približno našim rezultatima. Slično kao u danskoj studiji, kontrolna grupa italijanskih istraživača je bila sastavljena od zdravih ispitanica. Može se, nakon detaljnog uvida u literaturu, reći da su naši rezultati prvi koji upoređuju serumsku koncentraciju vitamina D između bolesnika sa RTT i bolesnika sa drugim neurološkim bolestima.

Nutritivni problemi su dobro poznat izazov kod dece i odraslih sa hendikepom. Postoje dokazi da su bolesnici sa RTT skloniji teškoćama u ishrani (npr. poremećenom gutanju i žvakanju, nesposobnosti za samostalno hranjenje, poremećajima disanja koji ometaju hranjenje), gastroezofagealnom refluksu i konstipaciji nego deca sa drugim razvojem poremećajima (Isaacs i sar, 2003). Svi navedeni faktori doprinose lošijem nutritivnom statusu a time i telesnom rastu i razvoju bolesnika sa RTT. Izraženija deficijencija vitamina D kod bolesnika sa RTT nego kod dece sa drugim neurološkim bolestima može se povezati sa visokom prevalencijom poremećaja ishrane kod RTT.

Slično rezultatima američke studije (Motil i sar, 2011), utvrdili smo da se medijana serumske koncentracije 25(OH)D ne razlikuje značajno između subkohorti RTT bolesnika formiranih prema uzrastu, z-skoru ITM, mutaciji, sposobnosti kretanja, prisustvu skolioze. Nasuprot rezultatima Ketlin Motil, pokazali smo da je upotreba antiepileptika bila povezana sa statistički značajno nižim vrednostima serumskog 25(OH)D kod bolesnika sa RTT. Druga važna razlika u odnosu na studiju Motil i sar., je bila značajna negativna korelacija između serumskih koncentracija 25(OH)D i PTH kod RTT bolesnika. Slična korelacija je pronađena u studiji deficijencije vitamina D kod dece sa primarnom i sekundarnom osteopenijom i osteoporozom (Bowden i sar, 2008). Poznato je da je sekundarni hiperparatiroidizam uzrokovan deficijencijom vitamina D faktor koji dovodi do ubrzanog metabolizma kosti i predstavlja faktor rizika za opadanje mineralnog sastava kosti i frakture, kako kod dece tako i kod odraslih (Lips, 2001, Ghergherechi i sar, 2012). Deficit vitamina D udružen sa upotrebom antiepileptika takođe može rezultirati sekundarnim hiperparatiroidizmom, ali ima i istraživanja koja daju drugačije rezultate (Misra i sar, 2010).

Dugotrajna upotreba antiepileptika je udružena sa poremećajem zdravlja kostiju i povećanim rizikom za prelome (Pack, 2008). Udruženost antiepileptičke terapije sa deficitom vitamina D je prepoznata još pre više od 40 godina; od tada su preduzete brojne studije ovog problema (Stamp i sar, 1972; Nettekoven i sar, 2008; Menon i sar, 2010). Istraživanje Menona i saradnika je pokazalo da već unutar prvih šest meseci od uvođenja antiepileptika kod odraslih dolazi do značajnog pada serumske koncentracije 25(OH)D. Skorija australijska studija je pokazala da istovremena primena 3 ili više antiepileptika predstavlja značajan rizik za deficit vitamina D (Fong i sar, 2013). Isto istraživanje je pokazalo da deca sa epilepsijom koja se javila u sklopu genetičkog poremećaja imaju veću sklonost deficitu vitamina D. Shellhaas i saradnici su 2010. saopštili su kako devojčice sa epilepsijom imaju značajno viši rizik za pojavu deficijencije vitamina D u odnosu na dečake. Činjenica da se naša grupa, zbog prirode RTT, sastoji samo od osoba ženskog pola, može biti jedno od objašnjenja za izuzetno visoku prevalenciju deficita vitamina D koju smo opisali.

Upotreba polivalentne terapije je predstavljala faktor rizika za pojavu deficijencije vitamina D u našoj grupi. Najviše korišćeni lekovi su bili valproat, lamotrigin and karbamazepin, a oni predstavljaju osnovu antiepileptičke terapije i u drugim centrima (Nissenkorn i sar, 2010). Upotreba pojedinih lekova nije bila povezana sa povišenim rizikom

za deficijenciju vitamina D. Uprkos poznatom podatku da karbamazepin interferira sa metabolizmom vitamina D, naši podaci su pokazali da je upotreba lamotrigina bila povezana sa nešto višim rizikom za deficijenciju vitamina D (lamotrigin se inače smatra lekom koji je bezbedan za koštani sistem (Sheth i sar, 2007).

Studija koju su sprovedi Cepollaro i sar. pokazala je da je serumski 25(OH)D bio jedini laboratorijski marker koštanog metabolizma koji je bio značajno različit (niži) kod pacijenata sa RTT koji primaju antiepileptike u odnosu na one koji su bez terapije. Ovaj nalaz je sličan našim rezultatima; dodatno smo utvrdili i da je povećanje broja antiepileptika povezano sa težim deficitom vitamina D kod RTT.

Mesto najčešćeg preloma kosti kod bolesnika sa RTT je butna kost i naši rezultati su u skladu sa ovim podatkom (Downs i sar, 2008). Prema rezultatima ranijih studija, deca koja primaju antiepileptike imaju 2-3 veći rizik za prelom kostiju u odnosu na opštu populaciju, dok bolesnice sa RTT imaju četverostruki rizik za frakturu kada se uporede sa zdravim ispitanicima; australijska studija procenjuje da je rizik za frakturu kod RTT bolesnika do 15 godine života iznosio 38-42% (Leonard i sar, 1999; Downs i sar, 2008), dok je teksaška studija pokazala prevalenciju fraktura od 28% kod pacijenata sa RTT starih od 2 do 38 godina (Motil i sar, 2008). Roende i sar. opisali su značajno povišenu prevalenciju patoloških fraktura kod RTT u odnosu na zdrave osobe. Pomenuta studija nije pokazala jasnu korelaciju između deficita vitamina D i fraktura kod RTT. Veliko istraživanje ranih determinanti rizika za frakturu kod bolesnika sa RTT nije uključilo i analizu nivoa vitamina D (Downs i sar, 2008). Naši rezultati pokazuju značajno snižen nivo vitamina D kod pacijenata sa RTT i frakturama u odnosu na one bez fraktura.

U našoj grupi je prevalencija fraktura bila niža nego u prethodno navedenim studijama bolesnika sa RTT. Ovo zapaženje se može pripisati mlađem prosečnom uzrastu naših pacijentkinja (medijana od 11,5 godina, uz 42.8% pacijentkinja mlađih od 10 godina) u odnosu na druga istraživanja. Utvrdili smo visok rizik (OR) za frakture kod pacijentkinja sa R255X mutacijom, koja je bila najčešća u našoj grupi. Rizik ove mutacije za frakturu je bio 2,79 u studiji Downs i sar. koji su pokazali da je R255X bila na drugom mestu (iza R270X) po visini rizika za pojavu frakture.

Studije koje su se bavile gustinom kostiju pokazale su visoku prevalenciju osteoporoze u RTT (Shapiro i sar, 2010; Roende i sar, 2011; Jefferson i sar, 2011). U našoj studiji

osteodenzitometrijsko merenje nije obavljeno kod svih pacijenata, te smo imali rezultate absorpcionometrije X-zracima (*dual energy*) predela lumbalne kičme za svega 5 pacijenata. Raspon njihovih godina je bio od 7 do 18, a z-skorovi ITM su bili u rasponu od -1,9 to -4,6, sa 80% z-skorova ispod -2,0. Medijana serumske koncentracije 25(OH)D za ove pacijente je iznosila 30,5 nmol/L, a kod jednog je registrovana fraktura. Shapiro i saradnici su 2010. pokazali da je kod 48,9% bolesnica sa RTT z-skor mineralne gustine kostiju bio ispod -2,0, and a ovaj procenat je kod odraslih pacijentkinja dostizao 75%. Studije pokazuju da mineralna gustina kostiju kod RTT nije bila u korelaciji sa serumskom koncentracijom 25(OH)D, ali jedan izveštaj ukazuje da je nivo 25(OH)D u serumu bio prediktor mineralnog sadržaja u organizmu (*whole body mineral content*) (Caffarelli i sar, 2012). Američka studija je pokazala da su z-skorovi mineralne gustne kostiju bili značajno niži kod starijih u odnosu na mlađe bolesnice sa RTT (Motil i sar, 2008). Naši rezultati pokazuju da su odrasle pacijentkinje bile sa značajno nižim vrednostima serumske koncentracije 25(OH)D u odnosu na bolesnice mlađe od 18 godina. Može se pretpostaviti da bi blagovremena suplementacija vitaminom D mogla da smanji rizik za pojavu osteoporoze i posledične frakture kod bolesnica sa RTT.

Nedavna studija pokazala je da korekcija deficita vitamina D kod osoba sa epilepsijom dovodi do smanjenja učestalosti napada (Holló i sar, 2012). Ukoliko bi nadoknada vitamina D kod deficitarnih pacijentkinja sa RTT dovela do smanjenja učestalosti napada, to bi dalje moglo voditi u smanjenje broja i doza antiepileptičkih lekova što bi povoljno uticalo na zdravlje kostiju.

Zaključili smo da je prevalencija teške deficijencije vitamina D visoka kod obolelih od RTT. Takođe, bolesnice sa RTT imaju viši rizik za deficit vitamina D nego osobe istog pola i uzrasta sa drugim neurološkim oboljenjima. Strategija antiepileptičke terapije u RTT treba da uzme u obzir visok rizik za tešku deficijenciju vitamina D, naročito u slučajevima koji zahtevaju politerapiju. Postoji visoka verovatnoća da bi korekcija deficita vitamina D kod RTT povoljno uticala na zdravlje kostiju, opšte stanje, ali i na kontrolu epilepsije kod obolelih od RTT.

#### **V.4. Kvalitet života i depresija kod majki dece sa Retovim sindromom**

Uticao svakodnevne brige za decu sa RTT na zdravlje roditelja je samo sporadično obrađivan u medicinskoj literaturi. Studije su se uglavnom bavile fizičkim i psihičkim statusom staratelja dece sa drugim oboljenjima koja uključuju motorni i mentalni hendikep i ova istraživanja su pokazala da ove majke imaju lošiji kvalitet života u odnosu na opštu populaciju ((Friedrich, 1981; Cadman 1991; Dyson 1993). Retov sindrom je teško neurorazvojno oboljenje i naše istraživanje je pokušalo da utvrdi koliki je uticaj RTT na fizičko i psihičko funkcionisanje majki. Procenili smo kvalitet života povezan sa zdravljem (health related quality of life – HRQoL) i prisustvo depresije kod 49 majki koje se staraju o deci sa RTT i analizirali moguće međusobne korelacije domena HRQoL, nivoa depresije, kliničke težine RTT u dece (skor CSS), kao i starosti majke. Pronašli smo da su klinička težina bolesti deteta i depresivnost majke u značajnoj međusobnoj korelaciji ali i prema svim domenima i kompozitnim skorovima HRQoL. Ovaj nalaz je u skladu sa studijama koje su ispitivali iste parametre u populacijama roditelja dece sa različitim hroničnim bolestima (Cushner-Weinstein, 2008; Shaligram 2007).

U našem uzorku, teška depresija (BDI-II score  $\geq 29$ ) je utvrđena kod 30.6% majki i taj nalaz je sličan nalazima studija depresije među majkama dece sa različitim vrstama neurološkog oštećenja. (Laurvick i sar, 2006; Sajedi i sar 2010). Studije koje su ispitivale mentalno zdravlje roditelja dece sa hendikepom su uglavnom pokazivale više skorove depresije (težu depresiju) ovih roditelja u odnosu na roditelje zdrave dece (Veisson i sar, 1999). Odluka da u naše istraživanje budu uključene samo majke je bazirana na rezultatima prethodnih studija koje su konzistentno pokazale da su očevi dece sa hendikepom imali manje skorove depresije nego majke, te je stoga psihosocijalna intervencija u toj grupi manje urgentna (Wolf i sar, 1989; Dagenais i sar, 2006). Zapažanje da majke trpe veći distres od očeva u slučaju onesposobljavajuće bolesti deteta se može objasniti činjenicom da majke obavljaju veći deo nege i praktičnog posla vezanog za disabilitet deteta. Adekvatni instrumenti koji bi ispitali opterećenje ovog tipa mogli bi podržati ovu hipotezu u budućim istraživanjima.

Značajna negativna korelacije između vrednosti BDI-II skale i skora CSS koju smo dokazali takođe je u skladu sa prethodnim nalazima da težina hendikepa blisko korelira sa psihosocijalnim stresom kod roditelja (Lambrenos i sar, 1996; Blacher i sar, 2006; Altindag i

sar, 2007). S druge strane, pojedine studije koje su se bavile depresijom majki dece sa cerebralnom paralizom nisu pronašle povezanost između maternalne depresije i kliničke težine bolesti deteta (Lambrenos i sar, 1996; Sajedi i sar, 2010).

Francuski istraživači su naglasili da prisustvo epileptički i ne-epileptičkih napada kod pacijenata sa Retovim sindromom ima negativan uticaj na porodični kvalitet života (Bahi-Buisson i sar, 2008). Multivarijanta regresiona analiza u našoj studiji je pokazala da prisustvo epilepsije nije značajno uticalo na domene HRQoL i nivo depresije. S druge strane, CSS skor pacijenata sa RTT je bio značajan faktor rizik za niže vrednosti svih SF-36 kompozitnih skorova kvaliteta života, kao i više vrednosti BDI-II skale depresije kod majki. U računanje CSS skora, pored brojnih parametara, uključeno je i prisustvo epilepsije.

Nedavna turska studija ukazala je na značajnu negativnu korelaciju između BDI skorova depresije i kvaliteta života (testiranih Nottingham Health profilom) sa obrazovnim nivoom majke (Bumin i sar, 2008). Obrazovanost majki je prepoznata kao prediktor depresije i lošijeg kvaliteta života i u drugim studijama (Fávero-Nunes i sar, 2010). Naša studija nije pronašla značajan uticaj obrazovnog nivoa majke na HRQoL i depresiju. Najverovatniji razlog ovakvom nalazu u našoj grupi je mali uzorak ispitanica sa visokim obrazovanjem (4 ispitanice).

Istraživanja sprovedena kod pacijenata sa različitim neurološkim oboljenjima ili kod njihovih staratelja (npr. muskularne distrofije, multipla skleroza) pokazale su značajnu negativnu korelaciju između depresije i domena kvaliteta života. (Drulović i Pekmezović, 2007, Im i sar, 2010). Sličan rezultat dobijen je u našoj studiji. Ovaj nalaz pokazuje da depresija povezana sa hroničnom bolešću ima nepovoljan efekat na kvalitet života kako samih bolesnika tako i njihovih staratelja.

Najveća studija koja se do sada bavila kvalitetom života kod roditelja koji se staraju od deci sa RTT pokazala je da je najteže pogođen skor kvaliteta života bio mentalni kompozitni skor SF-36 (Laurvick i sar, 2006), a nalazi naše studije korespondiraju sa ovim saopštenjem. Visoka prevalencija teške depresije u našoj grupi stoji u bliskoj vezi sa niskim skorovima domena mentalnog zdravlja SF-36. Laurvick i saradnici su takođe identifikovali porodične prihode i bihevioralne poremećaje kod dece sa RTT kao snažne prediktore nižih skorova domena mentalnog zdravlja kod majki, dok godine majke nisu imale značajan uticaj na kvalitet života. Sličan uticaj finansijskog statusa porodice opisuju i drugi istraživači (Fávero-



Nunes i sar, 2010). Prema rezultatima naše studije viši porodični prihodi nisu ublažavali psihocijalni stres, što je u skladu sa nalazima iz SAD i Australije (Blacher i sar, 1997; Bourke i sar, 2008). Naša studija takođe pokazuje da godine majke imaju uticaj na BDI-II skor i sve SF-36 kompozitne skorove, dok nezaposlenost predstavlja faktor rizika za težu depresiju.

Domeni kvaliteta života koji su bili najviše sniženi u populaciji majki koju smo ispitivali su bili RE, MH i VT. Druge studije HRQoL kod roditelja dece sa neruološkim oštećenjem pokazuju slične rezultate (Raina i sar, 2005; Bumin i sar, 2008). Velika kanadska studija je identifikovala da su funkcionalnost porodice, roditeljsko doživljavanje sopstvene ličnosti, težina starateljstva, menadžment stresa i poremećaji dečjeg ponašanja najsnažnije uticali na emocionalni i fizički kvalitet života roditelja dece sa cerebralnom paralizom (Raina i sar, 2005).

Ograničenja naše studije kvaliteta života i depresivnost se odnose na karakter same studije preseka koja onemogućava preciznu identifikaciju kauzalnih odnosa ispitivanih parametara, kao i na relativno mali broj ispitanica u odnosu na velike svetske studije. Buduća prospektivna ispitivanja trebalo bi da uključe ponavljana (serijska) merenja skorova HRQoL i depresije u populaciji majki sa RTT.

Ispitivanje kvaliteta života povezanog sa zdravljem (HRQoL) i depresije kod majki dece sa Retovim sindromom u našoj sredini je pokazalo da su najteže pogođeni domeni HRQoL bili emocionalno funkcionisanje, vitalnost i mentalno zdravlje. Na sve navedene domene značajan nepovoljan uticaj su imali veća starost majke i teža klinička slika RTT kod deteta. Takođe, pokazali smo visoku prevalenciju teške depresije od 30,6% među majkama koje se staraju o deci sa RTT. Rezultati naše studije mogu da omoguće planiranje intervencija usmerenih ka porodicama čiji su članovi oboleli od RTT. Intervencije bi trebalo da uključe rano prepoznavanje simptoma depresije kod majki dece sa RTT, omogućavanje uslova za adekvatno zaposlenje majki, kao i unapređenje specifičnih medicinskih mera koje bi mogle da ublaže kliničke manifestacije RTT kod obolele dece.

## VI ZAKLJUČCI

Na osnovu sprovedenog istraživanja epidemioloških i kliničkih karakteristika Retovog sindroma u populaciji Srbije mogu se doneti sledeći zaključci:

1. Incidencija Retovog sindroma u Srbiji se može proceniti na 0,586:10000 živorođene ženske dece što u potpunosti odgovara podacima velikih studija iz evropskih zemalja
2. Prevalencija Retovog sindroma u Srbiji se može proceniti na 1:8439 (odnosno 1,19:10000) osoba ženskog pola mlađih od 19 godina, što odgovara podacima svetskih studija i svrstava Srbiju u red zemalja sa višom prevalencijom Retovog sindroma
3. Od svih statističkih regiona Srbije, najveću prevalenciju Retovog sindroma ima region Beograda (1:5937 osoba ženskog pola mlađih od 18 godina), ali je ta vrednost manja u odnosu na svetske regione sa najvišom prevalencijom
4. Medijana uzrasta u kome je postavljena dijagnoza Retovog sindroma iznosila je 30 meseci što odgovara podacima iz drugih sredina
5. Dijagnoza Retovog sindroma je bila postavljena u značajno ranijem uzrastu posle 1990. godine nego u periodu pre toga
6. U grupi bolesnika sa Retovim sindromom registrovana je smrtnost od 18,63% tokom srednjeg perioda praćenja od 15,3 godine, a srednji uzrast u vreme smrtnog ishoda je iznosio 13,95 godina što ukazuje na raniju prosečnu smrtnost obolelih nego u razvijenim zemljama
7. Prema rezultatima Kaplan-Meierove funkcije preživljavanja, bolesnice sa Retovim sindromom u Srbiji imaju veći rizik za raniji smrtni ishod nego što pokazuju studije iz razvijenih sredina
8. Najčešći uzrok smrti u populaciji pacijenata sa Retovim sindromom u Srbiji je pneumonija što odgovara rezultatima većine drugih studija
9. Klinički skor težine bolesti (Clinical Severity Score, CSS) je bio najsnažniji prediktor smrtnog ishoda u odnosu na druge ispitivane faktore rizika
10. Bolesnice sa klasičnim oblikom Retovog sindroma imale su značajno veću smrtnost u odnosu na obolele od atipičnog oblika

11. Bolesnice sa Retovim sindromom bez sposobnosti samostalnog hoda imale su veći rizik za smrtni ishod u odnosu na pokretne bolesnice (nalaz sa marginalnom statističkom značajnošću)
12. Najčešći uzroci hospitalizacije za bolesnike sa Retovim sindromom u ispitivanoj grupi su bili epileptički napadi
13. Registrovano je znatno više obolelih od klasičnog Retovog sindroma (86%) u odnosu na atipične oblike (14%), što odgovara rezultatima multicentričnih studija iz drugih zemalja
14. Mutacije u MECP2 genu su bile značajno češće kod bolesnika sa klasičnim Retovim sindromom nego sa atipičnim oblikom, što odgovara rezultatima drugih istraživača
15. Najčešće mutacije u MECP2 genu u populaciji bolesnika sa Retovim sindromom u Srbiji su T158M, R255X i R168X što je uočeno u većini svetskih populacija
16. Klinički skor težine bolesti (Clinical Severity Score, CSS) se nije značajno razlikovao između bolesnika sa različitim mutacijama
17. Za pojedine kliničke parametre je ustanovljena genotipsko-fenotipska korelacija
18. Mutacija R270X je predstavljala značajan faktor rizika za rani poremećaj razvoja (u prvih 6 meseci)
19. Bolesnice sa “nonsense” tipom mutacija imale su veći rizik za smrtni ishod od bolesnica sa “missense” mutacijama što odgovara ranijim saznanjima
20. Bolesnice sa mutacijama R133C, R306C i C-terminalnim mutacijama imale su u značajno većem procentu očuvane govorne sposobnosti u odnosu na bolesnice sa drugim mutacijama
21. Bolesnice sa mutacijom R255X su imale viši rizik za frakturu u odnosu na bolesnice sa drugim mutacijama
22. Uzrast početka stereotipija je zavisio od mutacije u MECP2 genu, te su bolesnice sa R133C mutacijama imale značajno kasniji početak ovog znaka bolesti u odnosu na druge bolesnice
23. Epilepsija je prisutna kod 70,5% obolelih od Retovog sindroma u ispitivanoj grupi što odgovara drugim populacijama za koje su dostupni podaci
24. Principi primenjene antiepileptičke terapije kod bolesnica sa RTT u Srbiji bili su u skladu sa praksom većine epileptoloških centara u razvijenim zemljama

25. Sve bolesnice u ispitivanoj grupi su imale određeni stepen mentalne deficijencije, a više od dve trećine je imalo IQ ispod 50
26. Konstipacija je bila najčešća gastrointestinalna manifestacija Retovog sindroma u ispitanoj grupi što odgovara rezultatima iz velikih studija
27. Kod 30% bolesnica iz naše grupe z-skor indeksa telesne mase je pokazao vrednosti koje odgovaraju pothranjenosti
28. Korišćenje hranjenja preko perkutane gastrostome kod obolelih od Retovog sindroma je znatno manje zastupljeno u našoj sredini u odnosu na razvijene zemlje
29. Skolioza je bila prisutna kod 61,4% ispitane grupe što odgovara rezultatima drugih studija
30. Utvrđena je izrazito visoka prevalencija deficita vitamina D kod bolesnica sa Retovim sindromom
31. Najsnažniji faktor rizika za tešku deficijenciju vitamina D bila je primena antiepileptičke politerapije
32. Ispitivanje kvaliteta života povezanog sa zdravljem i depresije kod majki dece sa Retovim sindromom u našoj sredini je pokazalo da su najteže pogođeni domeni kvaliteta života emocionalno funkcionisanje, vitalnost i mentalno zdravlje
33. Pokazana je visoka prevalencija teške depresije od 30,6% među majkama koje se staraju o deci sa RTT
34. Rezultati ispitivanja kvaliteta života povezanog sa zdravljem i depresije kod majki dece sa Retovim sindromom mogu da omoguće planiranje psihosocijalnih intervencija usmerenih ka porodicama čiji su članovi oboleli od RTT.

## VII LITERATURA

1. Acampa M, Guideri F. Cardiac disease and Rett syndrome. *Arch Dis Child* 2006; 91:440-3.
2. Adkins NL, Georgel PT. MeCP2: structure and function. *Biochem Cell Biol* 2011; 89:1-11.
3. Ager S, Fyfe S, Christodoulou J, Jacoby P, et al. Predictors of scoliosis in Rett syndrome. *J Child Neurol* 2006; 21:809-13.
4. Alexopoulos D, Christodoulou J, Toulgaridis T, et al. Repolarisation abnormalities with prolonged hyperventilation in apparently healthy subjects: incidence, mechanisms and affecting factors. *Eur Heart J* 1996; 17:1432–7.
5. Amir RE, Van den Veyver IB, Schultz R, et al. Influence of mutation type and X chromosome inactivation on Rett syndrome phenotypes. *Ann Neurol* 2000; 47:670–9.
6. Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, et al. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl- CpG-binding protein 2. *Nat Genet* 1999; 23:185-8.
7. Archer H, Evans J, Leonard H, et al. Correlation between clinical severity in patients with Rett syndrome with a R168X or T158M MECP2 mutation, and the direction and degree of skewing of X-chromosome inactivation. *J Med Genet* 2007;44:148–2.
8. Archer HL, Evans JC, Millar DS, et al. NTNG1 mutations are a rare cause of Rett syndrome. *Am J Med Genet A* 2006; 140:691–4.
9. Ariani F, Hayek G, Rondinella D, et al. FOXP1 is responsible for the congenital variant of Rett syndrome. *Am J Hum Genet* 2008; 83:89–93.
10. Auriol E, Billard LM, Magdinier F, et al. Specific binding of the methyl binding domain protein 2 at the BRCA1-NBR2 locus. *Nucleic Acids Res* 2005; 33(13):4243-54.
11. Bahi-Buisson N, Guellec I, Nabbout R, et al. Parental view of epilepsy in Rett Syndrome. *Brain Dev* 2008; 30:126-30.
12. Bahi-Buisson N, Nectoux J, Rosas-Vargas H, Milh M, Boddaert N, Girard B, et al. Key clinical features to identify girls with CDKL5 mutations. *Brain* 2008; 131:2647-61.
13. Bao X, Downs J, Wong K, et al. Using a large international sample to investigate epilepsy in Rett syndrome. *Dev Med Child Neurol* 2013; 55:553-8.

14. Bebbington A, Anderson A, Ravine D, et al. Investigating genotype–phenotype relationships in Rett syndrome using an international data set. *Neurology* 2008; 70:868–75.
15. Bebbington A, Percy A, Christodoulou J, et al. Updating the profile of C-terminal MECP2 deletions in Rett syndrome. *J Med Genet* 2010; 47:242–8.
16. Ben Zeev B, Bebbington A, Ho G, et al. The common BDNF polymorphism may be a modifier of disease severity in Rett syndrome. *Neurology* 2009; 72:1242e7.
17. Berg M, Hagberg B. Rett syndrome: update of a 25 year follow-up investigation in Western Sweden – sociomedical aspects. *Brain Dev* 2001; 23:224–6.
18. Bernard D, Gil J, Dumont P, et al. The methyl-CpG-binding protein MECP2 is required for prostate cancer cell growth. *Oncogene*. 2006; 25:1358-66.
19. Bertani I, Rusconi L, Bolognese F, et al. Functional consequences of mutations in CDKL5, an X-linked gene involved in infantile spasms and mental retardation. *J Biol Chem* 2006; 281:32048–56.
20. Bienvenu T, Philippe C, De Roux N, et al. The incidence of Rett syndrome in France. *Pediatr Neurol*. 2006; 34:372-5.
21. Bienvenu T, Chelly J. Molecular genetics of Rett syndrome: when DNA methylation goes unrecognized. *Nat Rev Genet* 2006; 7:415-26.
22. Blacher J, Shapiro J, Lopez S, et al. Depression in Latina mothers of children with mental retardation: a neglected concern. *Am J Ment Retard* 1997; 101:483-96.
23. Boltshauser E, Kunzle C. Prevalence of Rett syndrome in Switzerland. *Helv Paediatr Acta* 1987; 42:407-11.
24. Borg I, Freude K, Kübart S, et al. Disruption of Netrin G1 by a balanced chromosome translocation in a girl with Rett syndrome. *Eur J Hum Genet* 2005; 13:921–7.
25. Bourke J, Ricciardo B, Bebbington A, et al. Maternal physical and mental health in children with Down syndrome. *J Pediatr* 2008; 153:320–6.
26. Brehaut JC, Kohen DE, Raina P, et al. The Health of Primary Caregivers of Children With Cerebral Palsy: How Does It Compare With That of Other Canadian Caregivers? *Pediatrics* 2004; 114:182-91.
27. Breslau N, Staruch KS, Mortimer EA. Psychological distress in mothers of disabled children. *Am J Dis Child* 1982; 136:682-6.

28. Bowden SA, Robinson RF, Carr R, et al. Prevalence of vitamin D deficiency and insufficiency in children with osteopenia or osteoporosis referred to a pediatric metabolic bone clinic. *Pediatrics* 2008; 121:1585-90.
29. Budden SS, Gunness ME. Possible mechanisms of osteopenia in Rett syndrome: bone histomorphometric studies. *J Child Neurol* 2003; 18:698-702.
30. Bunyan DJ, Robinson DO. Multiple de novo mutations in the MECP2 gene. *Genet Test* 2008; 12:373-5.
31. Buoni S, Zannolli R, Felice CD, et al. Drug-resistant epilepsy and epileptic phenotype-EEG association in MECP2 mutated Rett syndrome. *Clin Neurophysiol* 2008; 119: 2455-8.
32. Burd L, Vesley B, Martsolf JT, et al. Prevalence study of Rett syndrome in North Dakota children. *Am J Med Genet* 1991; 38:565-8.
33. Caffarelli C, Gonnelli S, Tanzilli L, et al. The relationship between serum ghrelin and body composition with bone mineral density and QUS parameters in subjects with Rett syndrome. *Bone* 2012; 50:830-5.
34. Caravagna C, Soliz J, Seaborn T. Brain-derived neurotrophic factor interacts with astrocytes and neurons to control respiration. *Eur J Neurosci* 2013; 38:3261-9.
35. Carotenuto M, Esposito M, D'Aniello A, et al. Polysomnographic findings in Rett syndrome: a case-control study. *Sleep Breath* 2013; 17:93-8.
36. Cepollaro C, Gonnelli S, Bruni D, et al. Dual X-ray absorptiometry and bone ultrasonography in patients with Rett syndrome. *Calcif Tissue Int* 2001; 69:259-62.
37. Charman T, Neilson TC, Mash V, et al. Dimensional phenotypic analysis and functional categorisation of mutations reveal novel genotype-phenotype associations in Rett syndrome. *Eur J Hum Genet* 2005. 13:1121–30.
38. Cheadle JP, Gill H, Fleming N, et al. Long-read sequence analysis of the MECP2 gene in Rett syndrome patients: correlation of disease severity with mutation type and location. *Hum Mol Genet* 2000; 9:1119-29.
39. Chen RZ, Akbarian S, Tudor M, et al. Deficiency of methyl-CpG binding protein-2 in CNS neurons results in a Rett-like phenotype in mice. *Nat Genet* 2001; 27:327-31.
40. Chen WG, Chang Q, Lin Y, et al. Derepression of BDNF transcription involves calcium-dependent phosphorylation of MeCP2. *Science* 2003; 302:885–9.

41. Clayton-Smith J, Watson P, Ramsden S, et al. Somatic mutation in MECP2 as a non-fatal neurodevelopmental disorder in males. *Lancet* 2000; 356: 830-2.
42. Cohen D, Lazar G, Couvert P, et al. MECP2 mutation in a boy with language disorder and schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2002; 159:148-9.
43. Colvin L, Fyfe S, Leonard S, et al. Describing the phenotype in Rett syndrome using a population database. *Arch Dis Child* 2003; 88:38–43.
44. Colvin L, Leonard H, de Klerk N, et al. Refining the phenotype of common mutations in Rett syndrome. *J Med Genet* 2004; 41:25–30.
45. Couvert P, Bienvenu T, Aquaviva C, et al. MECP2 is highly mutated in X-linked mental retardation. *Hum Mol Genet* 2001; 10:941-6.
46. Dan B, Cheron B. Postural control in children with Rett syndrome or Angelman syndrome. In: Hadders-Algra M, Brogren Carlberg E, editors. *Posture: A Key Issue in Developmental Disorders*. London: Mac Keith Press; 2008. p. 148–9.
47. Das DK, Udani V, Sanghavi D, et al. Mutational analysis of methyl-CpG binding protein 2 (MECP2) gene in Indian cases of Rett syndrome. *J Clin Lab Anal* 2013; 27:137-42.
48. Dearlove OR, Walker RW. Anaesthesia for Rett syndrome. *Paediatr Anaesth*. 1996; 6:155-8.
49. De Felice C, Guazzi G, Rossi M, et al. Unrecognized lung disease in classic Rett syndrome: a physiologic and high-resolution CT imaging study. *Chest* 2010; 138:386-92.
50. De Felice C, Maffei S, Signorini C, et al. Subclinical myocardial dysfunction in Rett syndrome. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2012; 13:339-45.
51. Djarmati A, Dobričić V, Kecmanović M, et al. MECP2 mutations in Serbian Rett syndrome patients. *Acta Neurol Scand* 2007; 116: 413-419.
52. Dolce A, Ben-Zeev B, Naidu S, et al. Rett syndrome and epilepsy: an update for child neurologists. *Pediatr Neurol* 2013; 48:337-45.
53. Downs J, Bebbington A, Woodhead H, et al. Early determinants of fractures in Rett syndrome. *Pediatrics* 2008; 121:540-6.
54. Đurić-Nedeljkovic M. Retov sindrom. U: Marjanović B, urednik. *Problemi u pedijatriji*, Beograd: Zavod za udžbenike; 1991. str. 114-132.
55. Ellaway C J, Sholler G, Leonard H. et al. Prolonged QT interval in Rett syndrome. *Arch Dis Child* 1999; 80:470–2.



56. Fehr S, Bebbington A, Nassar N, et al. Trends in the diagnosis of Rett syndrome in Australia. *Pediatr Res*. 2011; 70:313-9.
57. Fong CY, Riney CJ. Vitamin D Deficiency Among Children With Epilepsy in South Queensland. *J Child Neurol* January 22, 2013, doi: 10.1177/0883073812472256 [Epub ahead of print]
58. Freilinger M, Bebbington A, Lanator I, et al. Survival with Rett syndrome: comparing Rett's original sample with data from the Australian Rett Syndrome Database. *Dev Med Child Neurol* 2010; 52:962-5.
59. Fukuda T, Yamashita Y, Nagamitsu S, et al. Methyl-CpG binding protein 2 gene (MECP2) variations in Japanese patients with Rett syndrome: pathological mutations and polymorphisms. *Brain Dev* 2005; 27:211-7.
60. Georgel, PT, Horowitz-Scherer, RA, Adkins, N, et al. Chromatin compaction by human MeCP2. Assembly of novel secondary chromatin structures in the absence of DNA methylation. *J Biol Chem* 2003; 278:32181–8.
61. Ghergherechi R, Hazhir N, Tabrizi A. Comparison of vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in obese and non-obese children and adolescents. *Pak J Biol Sci* 2012; 15:147-51
62. Glaze DG, Percy AK, Skinner S, et al. Epilepsy and the natural history of Rett syndrome. *Neurology* 2010; 74:909-12.
63. Gonnelli S, Caffarelli C, Hayek J, et al. Bone ultrasonography at phalanxes in patients with Rett syndrome: a 3-year longitudinal study. *Bone* 2008; 42:737-42.
64. Goyal M, O'Riordan MA, Wiznitzer M. Effect of topiramate on seizures and respiratory dysrhythmia in Rett syndrome. *J Child Neurol*. 2004; 19:588-91.
65. Guerrini R, Parrini E. Epilepsy in Rett syndrome, and CDKL5- and FOXP1-gene-related encephalopathies. *Epilepsia* 2012; 53: 2067-78.
66. Guideri F, Acampa M, Calamendrei G. et al. Nerve growth factor plasma levels and ventricular repolarization in Rett syndrome. *Pediatr Cardiol* 2004; 25:394–6.
67. Guideri, F, Acampa M, Di Perri T, et al. Progressive cardiac dysautonomia observed in patients affected by classic Rett syndrome and not in the preserved speech variant. *J Child Neurol* 2001; 16:370–3.

68. Guideri F, Acampa M, Hayeck Y, et al. Effects of acetyl- L- carnitine on cardiac dysautonomia in Rett syndrome: prevention of sudden death? *Pediatr Cardiol* 2005; 26:574–7.
69. Guideri F, Acampa M, Matera MR, et al. Echocardiographic evaluation in Rett children with cardiac dysautonomia. *J Pediatr Neurol* 2004; 2143–146.
70. Haas RH, Dixon SD, Sartoris DJ, et al. Osteopenia in Rett syndrome. *J Pediatr* 1997; 131:771-4.
71. Hagberg B. Clinical delineation of Rett syndrome variants. *Neuropediatrics*. 1995; 26:62.
72. Hagberg B, Aicardi J, Dias K, et al. A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia, and loss of purposeful hand use in girls: Rett’s syndrome: report of 35 cases. *Ann Neurol* 1983; 14:471–9.
73. Hagberg B, Gillberg C. Rett variants-Rettoid phenotypes. In: Hagberg B, editor. *Rett Syndrome, Clinical and Biological Aspects, Clinics in Developmental Medicine*. vol. 127. Cambridge: MacKeith Press/Cambridge University Press; 1993. pp. 40–60.
74. Hagberg B, Goutières F, Hanefeld F, Rett A, Wilson J. Rett syndrome: criteria for inclusion and exclusion. *Brain Dev* 1985; 7:372-3.
75. Hagberg B, Hagberg G. The Swedish Rett syndrome series updated March 1996. Geographical distribution at ages 3-19 years. *Eur Child Adult Psych* 1997; 6:12-3.
76. Hagberg B, Hanefeld F, Percy A, et al. 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*. 2002; 6:293–7.
77. Halbach NS, Smeets EE, van den Braak N, et al. Genotype-phenotype relationships as prognosticators in Rett syndrome should be handled with care in clinical practice. *Am J Med Genet A* 2012; 158A:340-50.
78. Hewison M. Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010; 39:365-79.
79. Holló A, Clemens Z, Kamondi A, et al. Correction of vitamin D deficiency improves seizure control in epilepsy: a pilot study. *Epilepsy Behav* 2012; 24:131-3.
80. Horike S, Cai S, Miyano M, et al. Loss of silent-chromatin looping and impaired imprinting of DLX5 in Rett syndrome. *Nat Genet* 2005; 37:31–40.

81. Huppke P, Held M, Hanefeld F, et al. Influence of mutation type and location on phenotype in 123 patients with Rett syndrome. *Neuropediatrics* 2002; 33:63–8.
82. Huppke P, Köhler K, Brockmann K, et al. Treatment of epilepsy in Rett syndrome. *Eur J Paediatr Neurol* 2007; 11:10-6.
83. Huppke P, Roth C, Christen HJ, et al. Endocrinological study on growth retardation in Rett syndrome. *Acta Paediatr* 2001; 90:1257-61.
84. Ibrahim SH, Voigt RG, Katusic SK, et al. Incidence of gastrointestinal symptoms in children with autism: a population-based study. *Pediatrics* 2009; 124:680-6.
85. Isaacs JS, Murdock M, Lane J, et al. Eating difficulties in girls with Rett syndrome compared with other developmental disabilities. *J Am Diet Assoc* 2003; 103:224-30.
86. Ishikawa A. A new syndrome (?) of progressive psychomotor deterioration with peculiar stereotyped movements and autistic movements and autistic tendency: a report of three cases. *Brain and Development* 1978; 3: 258.
87. Jacob FD, Ramaswamy V, Andersen J, et al. Atypical Rett syndrome with selective FOXP1 deletion detected by comparative genomic hybridization: case report and review of literature. *Eur J Hum Genet* 2009; 17:1577-81.
88. Jefferson AL, Woodhead HJ, Fyfe S, et al. Bone mineral content and density in Rett syndrome and their contributing factors. *Pediatr Res* 2011; 69:293-8.
89. Jian L, Nagarajan L, de Klerk N, et al. Seizures in Rett syndrome: an overview from a one-year calendar study. *Eur J Paediatr Neurol* 2007; 11:310–7.
90. Julu PO, Kerr AM, Apartopoulos F, et al. Characterisation of breathing and associated central autonomic dysfunction in the Rett disorder. *Arch Dis Child* 2001; 85:29-37.
91. Julu P, Kerr A, Hansen S, Apartopoulos F, Jamal GA. Functional evidence of brain stem immaturity in Rett syndrome. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 1997; 6:47–54.
92. Julu PO, Witt Engerström I. Assessment of the maturity-related brainstem functions reveals the heterogeneous phenotypes and facilitates clinical management of Rett syndrome. *Brain Dev* 2005; 27:43-53.
93. Kankirawatana P, Leonard H, Ellaway C, et al. Early progressive encephalopathy in boys and MECP2 mutations. *Neurology*. 2006; 67:164–6.
94. Kearney D, Armstrong D, Glaze D. The conduction system in Rett syndrome. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 1997; 6:78–79.

95. Kerr AM, Armstrong DD, Prescott RJ, et al. Rett syndrome: analysis of deaths in the British survey. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 1997; 6:71-4.
96. Kerr A, Julu P. Recent insights into hyperventilation from the study of Rett syndrome *Arch Dis Child* 1999; 80:384-7.
97. Kerr A, Stephenson JBP. A study of the natural history of Rett syndrome in 23 girls. *Am J Med Genet* 1986; 24:77-83.
98. Kondo I, Yamagata H. Mutation spectrum and genotype–phenotype correlation of MECP2 in patients with Rett syndrome. *No To Hattatsu* 2002; 34:219–23.
99. Kozinetz CA, Skender ML, MacNaughton N, et al. Epidemiology of Rett syndrome: A population-based registry. *Pediatrics* 1993; 91:445-50.
100. Krajnc N, Župančič N, Oražem J. Epilepsy treatment in Rett syndrome. *J Child Neurol* 2011; 26:1429-33.
101. Laurvick CL, de Klerk N, Bower C, et al. Rett syndrome in Australia: a review of the epidemiology. *J Pediatr* 2006; 148:347-52.
102. Laurvick CL, Msall ME, Silburn S, et al. Physical and Mental Health of Mothers Caring for a Child With Rett Syndrome. *Pediatrics* 2006; 118:1152-64.
103. Leonard H. Rett syndrome in Australia. Perth, Western Australia: Master of Public Health; 1996.
104. Leonard H, Bower C, English D. The prevalence and incidence of Rett syndrome in Australia. *Eur Child Adolesc Psych* 1997; 6:8-10.
105. Leonard H, Colvin L, Christodoulou J, et al. Patients with the R133C mutation: Is their phenotype different from patients with Rett syndrome with other mutations? *J Med Genet* 2003; 40:e52.
106. Leonard H, Moore H, Carey M, et al. Genotype and early development in Rett syndrome: The value of international data. *Brain Dev* 2005; 27:59–68.
107. Leonard H, Thomson MR, Glasson EJ, et al. A population-based approach to the investigation of osteopenia in Rett syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1999; 41:323-8.
108. Lewis JD, Meehan RR, Henzel WJ, et al. Purification, sequence, and cellular localization of a novel chromosomal protein that binds to methylated DNA. *Cell* 1992; 69:905-14.

109. Li MR, Pan H, Bao XH, et al. Methyl-CpG-binding protein 2 gene and CDKL5 gene mutation in patients with Rett syndrome: analysis of 177 Chinese pediatric patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2009; 89(4):224-9.
110. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2001; 22:477-501.
111. Lotan M, Ben-Zeev B. Rett syndrome. A review with emphasis on clinical characteristics and intervention. *Scientific World Journal* 2006; 6:1517-41.
112. Maezawa I, Swanberg S, Harvey D, et al. Rett syndrome astrocytes are abnormal and spread MeCP2 deficiency through gap junctions. *J Neurosci* 2009; 29:5051-61.
113. Manuel J, Naughton M, Balkrishnan R, et al. Stress and Adaptation in Mothers of Children With Cerebral Palsy. *J Pediatr Psychol* 2003; 28:197-201.
114. Marschik PB, Kaufmann WE, Sigafos J, et al. Changing the perspective on early development of Rett syndrome. *Res Dev Disabil* 2013; 34:1236-9.
115. Martinowich K, Hattori D, Wu H, et al. DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent BDNF gene regulation. *Science* 2003; 302:890–3.
116. Matijevic T, Knezevic J, Barišić I, et al. The MECP2 gene mutation screening in Rett syndrome patients from Croatia. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1091:225–32.
117. Matijevic T, Knezevic J, Slavica M. et al. Rett Syndrome: From the Gene to the Disease. *European Neurology* 2009; 61:3-10.
118. McGill BE, Bundle SF, Yaylaoglu MB, et al. Enhanced anxiety and stress-induced corticosterone release are associated with increased Crh expression in a mouse model of Rett syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:18267–72.
119. Meehan RR, Lewis JD, Bird AP. Characterization of MeCP2, a vertebrate DNA binding protein with affinity for methylated DNA. *Nucleic Acids Res* 1992; 20:5085-92.
120. Menon B, Harinarayan CV. The effect of anti epileptic drug therapy on serum 25-hydroxyvitamin D and parameters of calcium and bone metabolism - a longitudinal study. *Seizure* 2010; 19:153-8.
121. Meyer JS, Mehdirad A, Salem BI, et al. Sudden arrhythmia death syndrome: importance of the long QT syndrome. *Am Fam Physician* 2003; 68:483-8.

122. Misra A, Aggarwal A, Singh O, et al. Effect of carbamazepine therapy on vitamin D and parathormone in epileptic children. *Pediatr Neurol* 2010; 43:320-4.
123. Mnatzakanian GN, Lohi H, Munteanu I, et al. A previously unidentified MECP2 open reading frame defines a new protein isoform relevant to Rett syndrome. *Nature Genet* 2004; 36:339–41.
124. Mobarak R, Khan N, Munir S, et al. Predictors of Stress in Mothers of Children With Cerebral Palsy in Bangladesh. *J Pediatr Psychol* 2000; 25:427-3.
125. Monrós E, Armstrong J, Aibar E, et al. Rett syndrome in Spain: mutation analysis and clinical correlations. *Brain Dev* 2001; 23:251-3.
126. Moore H, Leonard H, de Klerk N, et al. Health Service Use in Rett Syndrome. *J Child Neurol* 2005; 20:42-50.
127. Motil KJ, Barrish JO, Lane J, et al. Vitamin D deficiency is prevalent in girls and women with Rett syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 53:569-74.
128. Motil KJ, Caeg E, Barrish JO, et al. Gastrointestinal and nutritional problems occur frequently throughout life in girls and women with Rett syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 55:292-8.
129. Motil KJ, Ellis KJ, Barrish JO, et al. Bone mineral content and bone mineral density are lower in older than in younger females with Rett syndrome. *Pediatr Res* 2008; 64:435-9.
130. Motil KJ, Schultz RJ, Browning K, et al. Oropharyngeal dysfunction and gastroesophageal dysmotility are present in girls and women with Rett syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29:31-7.
131. Nan, X, Ng HH, Johnson CA, et al. Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature* 1998; 393:386–9.
132. Nectoux J, Girard B, Bahi-Buisson N, et al. Netrin G1 mutations are an uncommon cause of atypical Rett syndrome with or without epilepsy. *Pediatr Neurol* 2007; 37:270-4.
133. Nemos C, Lambert L, Giuliano F, et al. Mutational spectrum of CDKL5 in early-onset encephalopathies: a study of a large collection of French patients and review of the literature. *Clin Genet* 2009; 76:357-71.
134. Nettekoven S, Ströhle A, Trunz B, et al. Effects of antiepileptic drug therapy on vitamin D status and biochemical markers of bone turnover in children with epilepsy. *Eur J Pediatr* 2008; 167:1369-77.

135. Neul JL, Fang P, Barrish J, et al. Specific mutations in methyl-CpG-binding protein 2 confer different severity in Rett syndrome. *Neurology* 2008; 70:1313–21.
136. Neul JL, Kaufmann WE, Glaze DG, et al; RettSearch Consortium. Rett syndrome: revised diagnostic criteria and nomenclature. *Ann Neurol* 2010; 68:944-50.
137. Nho JS, Shin DS, Moon JY, Yi JW, Kang JM, Lee BJ, i sar. Anesthetic management of an adult patient with Rett syndrome and limited mouth opening - A case report. *Korean J Anesthesiol.* 2011; 61:428-30.
138. Nissenkorn A, Gak E, Vecsler M, et al. Epilepsy in Rett syndrome - the experience of a National Rett Center. *Epilepsia* 2010; 51:1252-8.
139. Nomura Y. Early behavior characteristics and sleep disturbance in Rett syndrome. *Brain Dev* 2005; 27:35-42.
140. Orrico A, Lam C, Galli L, et al. MECP2 mutation in male patients with non-specific X-linked mental retardation. *FEBS Lett* 2000; 481:285–8.
141. Pack A. Bone health in people with epilepsy: is it impaired and what are the risk factors? *Seizure* 2008; 17:181-6.
142. Percy AK, Lee HS, Neul JL, et al. Profiling scoliosis in Rett syndrome. *Pediatr Res* 2010; 67:435-9.
143. Philippe C, Villard L, De Roux N, et al. Spectrum and distribution of MECP2 mutations in 424 Rett syndrome patients: a molecular update. *Eur J Med Genet* 2006; 49:9-18.
144. Pini G, Milan M, Zappella M. Rett syndrome in northern Tuscany (Italy): family tree studies. *Clin Genet* 1996; 50:486-90.
145. Pozzi CM, Rosemberg S. Rett syndrome: clinical and epidemiological aspects in a Brazilian institution. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003; 61:909-15.
146. Psoni S, Sofocleous C, Traeger-Synodinos J, et al. MECP2 mutations and clinical correlations in Greek children with Rett syndrome and associated neurodevelopmental disorders. *Brain Dev* 2012; 34:487-95.
147. Raizis AM, Saleem M, MacKay R, et al. Spectrum of MECP2 mutations in New Zealand Rett syndrome patients. *N Z Med J.* 2009; 122(1296):21-8.
148. Rejnmark L. Effects of vitamin D on muscle function and performance: a review of evidence from randomized controlled trials. *Ther Adv Chronic Dis* 2011; 2: 25-37.

149. Rett A. On a unusual brain atrophy syndrome in hyperammonemia in childhood. *Wien Med Wochenschr* 1966; 116:723–726.
150. RettBASE: IRSF MECP2 Variation Database. Dostupno na: <http://mecp2.chw.edu.au/>, preuzeto 16.11.2013.
151. Roende G, Ravn K, Fuglsang K, et al. DXA measurements in Rett syndrome reveal small bones with low bone mass. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2280-6.
152. Roende G, Ravn K, Fuglsang K, et al. Patients With Rett Syndrome Sustain Low-Energy Fractures. *Pediatr Res* 2011; 69:359-64.
153. Scala E, Longo I, Ottimo F, et al. MECP2 deletions and genotype-phenotype correlation in Rett syndrome. *Am J Med Genet A* 2007; 143:2775-84.
154. Schultz RJ, Glaze DG, Motil KJ, et al. The pattern of growth failure in Rett syndrome. *Am J Dis Child* 1993; 147:633– 7.
155. Schwartzman JS, De Souza AM, Faiwichow G, et al. Rett phenotype in patient with XXY karyotype: case report. *Arq Neuropsiquiatr* 1998; 56:824–8.
156. Schwartzman F, Vítolo MR, Schwartzman JS, et al. Eating practices, nutritional status and constipation in patients with Rett syndrome. *Arq Gastroenterol* 2008; 45:284-9.
157. Sekul E A, Moak J P, Schultz R J, et al. Electrocardiographic findings in Rett syndrome: an explanation for sudden death? *J Pediatr* 1994; 125:80–2.
158. Shahbazian M, Young J, Yuva-Paylor L, et al. Mice with truncated MeCP2 recapitulate many Rett syndrome features and display hyperacetylation of histone H3. *Neuron* 2002; 35:243–54.
159. Shapiro JR, Bibat B, Hiremath G, et al. Bone Mass in Rett Syndrome: Association With Clinical Parameters and MECP2 Mutations. *Pediatr Res* 2010; 68:446-51.
160. Shellhaas RA, Barks AK, Joshi SM, et al. Prevalence and risk factors for vitamin D insufficiency among children with epilepsy. *Pediatr Neurol* 2010; 42:422-6.
161. Sheth RD, Hermann BP. Bone mineral density with lamotrigine monotherapy for epilepsy. *Pediatr Neurol* 2007; 37:250-4.
162. Shibayama A, Cook EH Jr, Feng J, et al. MECP2 structural and 3'-UTR variants in schizophrenia, autism and other psychiatric diseases: a possible association with autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2004; 128:50-3.



163. Singleton MK, Gonzales ML, Leung KN, et al. MeCP2 is required for global heterochromatic and nucleolar changes during activity-dependent neuronal maturation. *Neurobiol Dis* 2011; 43:190-200.
164. Skjeldal OH, Vontetzchner S, Aspelund F, et al. Rett syndrome – geographic variation in prevalence in Norway. *Brain Dev* 1997; 19:258-61.
165. Smeets EE, Pelc K, Dan B. Rett Syndrome. *Mol Syndromol* 2012; 2:113-27.
166. Smeets EE, Chenault M, Curfs LM, et al. Rett syndrome and long-term disorder profile. *Am J Med Genet Part* 2009; 149:199–205.
167. Smeets E, Terhal P, Casaer P, et al. Rett syndrome in females with CTS hot spot deletions: A disorder profile. *Am J Med Genet Part A* 2005; 132:117–20.
168. Smrt RD, Eaves-Egenes J, Barkho BZ, et al. Mecp2 deficiency leads to delayed maturation and altered gene expression in hippocampal neurons. *Neurobiol Dis* 2007; 27:77-89.
169. Stamp TC, Round JM, Rowe DJ, et al. Plasma levels and therapeutic effect of 25-hydroxycholecalciferol in epileptic patients taking anticonvulsant drugs. *Br Med J* 1972; 4:9-12.
170. Steffenburg U, Hagberg G, Hagberg B. Epilepsy in a representative series of Rett syndrome. *Acta Paediatr* 2001; 90:34–9.
171. Stenbom Y, Tonny B, Hagberg B. Lamotrigine in Rett syndrome: treatment experience from a pilot study. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 1998; 7:49-52.
172. Stokland E, Lidstrom J, Hagberg B. Scoliosis in Rett Syndrome. In: Hagberg B, editor. *Rett Syndrome-Clinical & Biological Aspects*. London: Mac Keith Press; 1993. pp. 61–71.
173. Sullivan P. Gastrointestinal disorders in children with neurodevelopmental disabilities. *Develop Dis Res Rev* 2008; 14:128–136.
174. Suzuki H, Hirayama Y, Arima M. Prevalence of Rett syndrome in Tokyo. *No To Hattatsu (Tokyo)* 1989; 21:430-3.
175. Talvik T, Soot A, Beilmann A, et al. Rett syndrome in Estonia: prevalence of the classical phenotype. *Acta Paediatr* 1995; 84:1070-1.
176. Tao J, Van Esch H, Hagedorn-Greiwe M, et al. Mutations in the X-linked cyclin-dependent kinase-like 5 (CDKL5/STK9) gene are associated with severe neurodevelopmental retardation. *Am J Hum Genet* 2004; 75:1149–54.

177. Tarquinio DC, Motil KJ, Hou W, et al. Growth failure and outcome in Rett syndrome: specific growth references. *Neurology*. 2012; 79:1653-61.
178. Terai K, Munesue T, Hiratani M, et al. The prevalence of Rett syndrome in Fukui prefecture. *Brain Dev* 1995; 17:153-4.
179. Uldall P, Hansen FJ, Tonny B. Lamotrigine in Rett syndrome. *Neuropediatrics* 1993; 24:339-40.
180. Vranješević, D. Rettov sindrom – Progresivni razvoj autizma, demencije, ataksije sa stereotipnim korišćenjem ruku u devojčice. Zbornik radova, III Jugoslovenski simpozijum psihijatrije i neurologije razvojnog doba, 1987.
181. Villard L. MECP2 mutations in males. *J Med Genet* 2007; 44:417-23.
182. Watson P, Black G, Ramsden S, et al. Angelman syndrome phenotype associated with mutations in MECP2, a gene encoding a methyl CpG binding protein. *J Med Genet* 2001; 38:224–8.
183. Weaving LS, Christodoulou J, Williamson SL, et al. Mutations of CDKL5 cause a severe neurodevelopmental disorder with infantile spasms and mental retardation. *Am J Hum Genet* 2004; 75:1079–93.
184. Weese-Mayer DE, Lieske SP, Boothby CM, et al. Autonomic nervous system dysregulation: breathing and heart rate perturbation during wakefulness in young girls with Rett syndrome. *Pediatr Res* 2006; 60:443-9.
185. Weese-Mayer DE, Lieske SP, Boothby CM, et al. Autonomic dysregulation in young girls with Rett Syndrome during nighttime in-home recordings. *Pediatr Pulmonol* 2008; 43:1045-60.
186. Witt Engerström I. Rett Syndrome in Sweden. *Neurodevelopment – disability – pathophysiology*. *Acta Paediatr Scand* 1990; 369:1–60.
187. Wong VC, Li SY. Rett syndrome: prevalence among Chinese and a comparison of MECP2 mutations of classic Rett syndrome with other neurodevelopmental disorders. *J Child Neurol* 2007; 22:1397-400.
188. Ylisaukko-Oja T, Rehnström K, Vanhala R, et al. MECP2 mutation analysis in patients with mental retardation. *Am J Med Genet A*. 2005; 132:121-4.
189. Young JI, Zoghbi HY. X-chromosome inactivation patterns are unbalanced and affect the phenotypic outcome in a mouse model of rett syndrome. *Am J Hum Genet* 2004; 74:511-20.

190. Yu F, Thiesen J, Strätling WH. Histone deacetylase-independent transcriptional repression by methyl-CpG-binding protein 2. *Nucleic Acids Res* 2000; 28:2201-6.
191. Zahorakova D, Rosipal R, Hadac J, et al. Mutation analysis of the MECP2 gene in patients of Slavic origin with Rett syndrome: novel mutations and polymorphisms. *J Hum Genet* 2007; 52:342–8.
192. Zappella M, Cerioli M. High prevalence of Rett syndrome in a small area. *Brain Dev* 1987; 9:479-80.
193. Zappella M, Gillberg C, Ehlers S. The preserved speech variant: a subgroup of the Rett complex: a clinical report of 30 cases. *J Autism Dev Disord* 1998; 28:519-26.
194. Zappella M, Meloni I, Longo I, et al. Study of MECP2 gene in Rett syndrome variants and autistic girls. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2003; 119:102-7.

## VIII Prilozi

### Prilog A. Upitnik SF-36 za ispitivanje kvaliteta života povezanog sa zdravljem

1. Generalno, da li biste rekli da je Vaše zdravlje:

Odlično	Vrlo dobro	Dobro	Pristojno	Loše
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

2. U porođenju sa godinu dana ranije, kako biste ocenili svoje globalno zdravlje sada?

Mnogo bolje nego pre godinu	Nešto bolje nego pre godinu dana	Otprilike isto kao pre godinu dana	Nešto gore nego pre godinu dana	Mnogo gore nego pre godinu dana
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

3. Sledeća pitanja se odnose na aktivnosti koje biste verovatno imali tokom uobičajenog dana. Da li Vas zdravlje sada ograničava u ovim aktivnostima? Ako da, koliko?

	<b>Da, vrlo me ograničava</b>	<b>Da, malo me ograničava</b>	<b>Ne, uopšte me ne ograničava</b>
a) <b>Aktivnosti koje zahtevaju veliku energiju</b> , kao trčanje, dizanje teških predmeta, učešće u sportskim aktivnostima	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
b) <b>Umerene aktivnosti</b> , kao što je pomeranje stola, usisavanje, kupanje ili mini-golf	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

- |  |                       |                       |                       |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| c) Podizanje ili nošenje namirnica iz prodavnice | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| d) Penjanje uz više nizova stepenica             | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| e) Penjanje uz jedan niz stepenica               | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| f) Klečanje, savijanje ili naginjanje            | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| g) Hodanje više od 1,5 km                        | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| h) Hodanje nekoliko stotina metara               | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| i) Hodanje sto metara                            | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| j) Samostalno kupanje ili oblačenje oblačenje    | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |

4. Tokom **poslednje četiri nedelje**, da li ste imali neki od sledećih problema sa Vašim poslom ili svakodnevnim dnevnim aktivnostima **kao posledicu Vašeg fizičkog zdravlja?**

- |   | <b>DA</b>             | <b>NE</b>             |
|---|-----------------------|-----------------------|
| a) Smanjenje <b>količine vremena</b> koje možete da provedete u poslu ili drugim aktivnostima   | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| b) <b>Postižete manje</b> nego što biste želeli   | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| c) Ograničenje <b>u vrsti</b> posla ili drugih aktivnosti (npr. , koje zahtevaju poseban napor) | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| d) Imate <b>teškoće</b> u obavljanju posla ili drugih aktivnosti                                | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |

5. Tokom poslednje četiri nedelje, da li ste imali neki od sledećih problema sa Vašim poslom ili svakodnevnim aktivnostima **kao posledicu Vaših emocionalnih problema (kao što je osećanje potištenosti ili napetosti)** ?

	<b>DA</b>	<b>NE</b>
a) Smanjenje <b>dužine vremena</b> koje ste mogli da provodite u poslu ili drugim aktivnostima	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
b) <b>Postizali manje</b> nego što biste želeli	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
c) Bavili ste se poslom ili drugim aktivnostima <b>manje pažljivo nego obično</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

6. Tokom **poslednje četiri nedelje**, u kojoj su meri Vaše fizičko zdravlje ili emocionalni problemi, uticali na Vaše normalne društvene aktivnosti sa porodicom, prijateljima, susedima?

<b>Uopšte ne</b>	<b>Blago</b>	<b>Umereno</b>	<b>Dobrim delom</b>	<b>Vrlo mnogo</b>
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

7. Koliko ste tokom **poslednje četiri nedelje** imali telesne bolove?

<b>Nimalo</b>	<b>Vrlo blage</b>	<b>Blage</b>	<b>Umerene</b>	<b>Ozbiljne</b>	<b>Vrlo ozbiljne</b>
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

8. Tokom **poslednje četiri nedelje**, koliko je bol uticao na Vaše svakodnevne aktivnosti?

<b>Uopšte ne</b>	<b>Sasvim malo</b>	<b>Umereno</b>	<b>Dobrim delom</b>	<b>Vrlo mnogo</b>
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

9. Ova pitanja se odnose na to kako se se osećali tokom **poslednje četiri nedelje**. Za svako pitanje izaberite odgovor koji je najbliži tome kako ste se osećali. Koliko ste (se) vremena tokom **poslednje četiri nedelje** .....

	<b>Sve vreme</b>	<b>Većinu vremena</b>	<b>Dobar deo vremena</b>	<b>Neko vreme</b>	<b>Malo vremena</b>	<b>Nimalo vremena</b>
a) Osećali puni života?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
b) Bili vrlo nerovozni?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
c) Bili toliko neraspoloženi da ništa nije moglo da Vas oraspoloži?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
d) Osećali mirno i opuštano?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
e) Imali mnogo energije?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
f) Osećali deprimirano i depresivno?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
g) Osećali istrošeno?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
h) Bili srećni?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
i) Osećali umorno?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

10. Tokom **poslednje četiri nedelje**, koliko su vremena Vaše **fizičko zdravlje ili emocionalni problemi** uticali na Vaše društvene aktivnosti (kao posete prijatelja, rođaka, itd.)?

Sve vreme	Većinu vremena	Neko vreme	Malo vremena	Nimalo vremena
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

11. Koliko je **svaka** od sledećih tvrdnji za Vas **TAČNA ili NETAČNA**?

	Sasvim tačna	Ugalvnom tačna	Ne znam	Uglavnom netačna	Potpuno netačna
a) Izgleda da se razboljevam nešto lakše od drugih ljudi	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
b) Ja sam zdrav kao bilo ko koga poznajem	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
c) Očekujem da se moje zdravlje pogorša	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
d) Moje zdravlje je odlično	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>



## Prilog B. Bekova skala depresije - II

U ovom upitniku date su grupe različitih stanja. Pažljivo pročitajte svaku. Zatim izaberite jedno stanje iz svake grupe koje najbolje opisuju kako ste se osećali prošle nedelje, uključujući i danas. Zaokružite broj pored stanja koje ste izabrali. Ukoliko Vam u nekoj grupi podjednako odgovara nekoliko stanja, zaokružite svako od njih, ali prethodno obavezno pročitajte svako stanje iz svake grupe pre nego što se odlučite.

1.     0 Nisam tužan  
       1 Tužan sam  
       2 Tužan sam sve vreme i ne mogu da se otresem toga  
       3 Toliko sam tužan ili nesrećan da to ne mogu da podnesem
  
2.     0 Nisam posebno obeshrabren u odnosu na budućnost  
       1 Obeshrabren sam u odnosu na budućnost  
       2 Osećam da nemam čemu da se nadam  
       3 Osećam da mi je budućnost beznadežna i da stvari ne mogu da se           poprave
  
3.     0 Ne osećam se promašeno  
       1 Osećam da sam promašio više nego prosečan čovek  
       2 Kad razmišljam o svom životu, sve što vidim je mnoštvo promašaja  
       3 Osećam da sam potpuno promašen čovek
  
4.     0 Osećam zadovoljstvo u svemu kao i ranije  
       1 Ne uživam više u stvarima kao ranije  
       2 Više nemam pravog zadovoljstva ni u čemu  
       3 Osećam nezadovoljstvo i dosadu u svemu
  
5.     0 Ne osećam neku posebnu krivicu  
       1 Osećam krivicu dosta često  
       2 Uglavnom se osećam krivim  
       3 Osećam krivicu stalno

6.
  - 0 Ne osećam da sam kažnjen
  - 1 Osećam da ću možda biti kažnjen
  - 2 Očekujem da budem kažnjen
  - 3 Osećam da sam kažnjen
  
7.
  - 0 Ne osećam da sam razočaran samim sobom
  - 1 Razočaran sam samim sobom
  - 2 Zgađen sam nad sobom
  - 3 Mrzim samog sebe
  
8.
  - 0 Ne osećam se gorim od drugih
  - 1 Kritičan sam u odnosu na svoje slabosti i greške
  - 2 Stalno krivim sebe zbog svojih grešaka
  - 3 Krivim sebe zbog svega lošeg što se dogodi
  
9.
  - 0 Ne razmišljam da se ubijem
  - 1 Razmišljam o samoubistvu, ali to ne bih učinio
  - 2 Voleo bih da se ubijem
  - 3 Ubio bih se da imam prilike da to učinim
  
10.
  - 0 Ne plačem češće nego obično
  - 1 Plačem više nego ranije
  - 2 Stalno plačem
  - 3 Ranije sam mogao da plačem, ali sada više ne mogu iako osećam potrebu
  
11.
  - 0 Ne osećam da sam razdražljiviji nego obično
  - 1 Razdražljiv sam i uznemirim se lakše nego pre
  - 2 Neprekidno sam razdražen
  - 3 Više me uopšte ne iritiraju stvari koje bi me ranije iritirale
  
12.
  - 0 Nisam izgubio interesovanje za druge ljude
  - 1 Manje se interesujem za druge ljude nego ranije
  - 2 Uglavnom sam izgubio interesovanje za druge ljude

- 3 Potpuno sam izgubio interesovanje za druge ljude
13. 0 U stanju sam da donosim odluke kao i ranije  
1 Odlazem donošenje odluka češće nego ranije  
2 Imam većih poteškoća u donošenju odluka nego ranije  
3 Uopšte nisam u stanju da donosim odluke
14. 0 Ne osećam da izgledam lošije nego ranije  
1 Zabrinut(a) sam da izgledam staro i neprivlačno  
2 Osećam stalne promene u svom spoljašnjem izgledu koje me čine neprivlačni(o)m  
3 Verujem da sam ružan(a)
15. 0 Mogu da radim dobro kao i ranije  
1 Moram da uložim poseban napor da bih nešto započeo  
2 Maram da ulažem veoma mnogo napora da bih bilo šta uradio  
3 Uopšte nisam u stanju da radim
16. 0 Spavam dobro kao i obično  
1 Ne spavam više tako dobro  
2 Budim se sat-dva ranije nego obično i teško mi je da ponovo zaspim  
3 Budim se nekoliko sati ranije nego obično i više nisam u stanju da zaspim
17. 0 Ne zamaram se više nego obično  
1 Lakše se zamaram nego ranije  
2 Zamara me gotovo sve što radim  
3 Suviše sam umoran da bih bilo šta radio
18. 0 Apetit mi nije slabiji nego obično  
1 Apetit mi više nije tako dobar kao pre  
2 Imam vrlo slab apetit  
3 Uopšte više nemam apetit

19. 0 U poslednje vreme nisam izgubio mnogo na težini  
1 Izgubio sam više od 2,5 kg  
2 Izgubio sam više od 5 kg  
3 Izgubio sam više od 7,5 kg
20. 0 Ne brinem o svom zdravlju više nego obično  
1 Zabrinjavaju me telesni simptomi kao što su razni bolovi, loše varenje, zatvor  
2 Veoma me brine moje fizičko stanje, tako da mi je teško da mislim o drugim stvarima  
3 Toliko me brine moje fizičko stanje da ni o čemu drugom ne razmišljam
21. 0 U poslednje vreme nisam manje zainteresovan za seks nego ranije  
1 U poslednje vreme sam nešto manje zainteresovan za seks nego ranije  
2 U poslednje vreme sam mnogo manje zainteresovan za seks nego ranije  
3 U poslednje vreme sam potpuno izgubio interesovanje za seks

**Prilog C. Klinički skor težine bolesti (Clinical Severity Score, CSS) za Retov sindrom**

Kliničke manifestacije	Skor	Definicija
Uzrast početka regresije (meseći)	1	> 30
	2	18-30
	3	12-18
	4	6-12
	5	< 6
Telesni rast (indeks telesne mase – ITM)	0	p26-50
	1	p11-25
	2	p5-10
	3	< p5
	4	<< p5
Rast obima glave (OG)	0	Bez usporenog rasta OG
	1	Usporen rast OG za više od 2 centila i OG iznad p10 u uzrastu starijem od dve godine
	2	OG p2-10 sa navršene dve godine
	3	OG p2-10 pre navršene druge godine
	4	OG < p2 pre navršene druge godine
Sposobnost samostalnog sedenja	0	Uspostavlja samostalno sedenje pre osmog meseca
	1	Uspostavlja samostalno sedenje posle osmog meseca
	2	Uspostavlja samostalno sedenje posle 18. meseca
	3	Uspostavlja samostalno sedenje posle 30. meseca
	4	Izgubljena prethodno stečena sposobnost samostalnog sedenja
	5	Nikada nije stečena sposobnost samostalnog sedenja

Hod	0	Uspostavlja samostalan hod do 18. meseca
	1	Uspostavlja samostalan hod od 18. do 30. meseca
	2	Uspostavlja samostalan hod posle 30. meseca
	3	Posle 50. meseca hoda uz pomoć
	4	Izgubljena prethodno stečena sposobnost samostalnog hoda
	5	Nikada nije stečena sposobnost samostalnog hoda
Upotreba šake	0	Pravovremeno stečena i očuvana upotreba šake
	1	Držanje predmeta uspostavljeno do 6-8. meseca i parcijalno očuvano
	2	Držanje predmeta uspostavljeno posle 10. meseca i parcijalno očuvano
	3	Izgubljena prethodno stečena sposobnost upotrebe šake
	4	Nikada nije stečena sposobnost upotrebe šake
Skolioza	0	Odsutna
	1	1-20°
	2	20-40°
	3	40-60°
	4	> 60°
	5	Hirurški lečena skolioza
Govor	0	Očuvan
	1	Izgovara kratke fraze
	2	Izgovara pojedinačne reči
	3	Vokalizuje i brblja
	4	Govor odsutan
Neverbalna komunikacija	0	Očuvana komunikacija pomoću prsta i očiju
	1	Kontakt očima duži od 30 sekundi
	2	Intermitentni kontakt očima (trajanja 5-30 sekundi)
	3	Redak kontakt očima (kraće od 5 sekundi)
	4	Izgubljena sposobnost neverbalne komunikacije
	5	Nikada stečena sposobnost neverbalne komunikacije

Respiratorni poremećaji	0	Odsutni
	1	Minimalna hiperventilacija i/ili apneja (kraće od 10% vremena)
	2	Intermitentna hiperventilacija i/ili apneja (50% vremena)
	3	Konstantna hiperventilacija i/ili apneja bez cijanoze (100% vremena)
	4	Konstantna hiperventilacija i/ili apneja sa cijanozom
Autonomni simptomi	0	Odsutni
	1	Ružičasta i hladna koža
	2	Marmorizovana i hladna koža
	3	Plavo-ljubičaste i hladne šake ili stopala
	4	Plavo-ljubičaste i hladne šake i stopala
Početak stereotipija	0	Posle desete godine
	1	Od 36. meseca do 10. godine
	2	Od 18. do 36. meseca
	3	Od 12. do 18. meseca
	4	Pre 12. meseca
Epilepsija	0	Bez napada
	1	Napadi ređi od jednom mesečno
	2	Napadi jednom mesečno
	3	Napadi jednom nedeljno
	4	Napadi više puta nedeljno
	5	Infantilni spazmi

## **Biografija kandidata**

Adrijan Sarajlija je rođen 1976. godine u Zvorniku. Završio je Medicinski fakultet u Beogradu 2001. godine sa prosečnom ocenom 9,71. Dobitnik je stipendije Kraljevske Norveške ambasade 2000. godine kao jedan od najboljih studenata u Srbiji. Od 2003. godine je zaposlen u Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije "Dr Vukan Čupić" u Novom Beogradu. Specijalistički ispit iz pedijatrije položio je sa odličnim uspehom 2009. godine. Radi u Službi za ispitivanje i lečenje poremećaja metabolizma sa kliničkom genetikom Instituta. Uža oblast kandidatovog stručnog interesovanja su lizozomske bolesti taloženja, neurorazvojni poremećaji, mitohondrijske bolesti, poremećaji metabolizma lipida i metabolizam vitamina D. Poslediplomske tečajeve iz oblasti urođenih bolesti metabolizma pohađao je u inostranstvu (Majnc, Berlin, Hajdelberg). Autor i koautor je u više od sedamdeset bibliografskih jedinica, iz različitih oblasti pedijatrije. Stalni je saradnik redakcije godišnjaka *Problemi u pedijatriji*.



Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Potpisani-a \_\_\_\_\_ Adrijan Sarajlija \_\_\_\_\_  
broj upisa 07-DS-EP-12

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

**“Epidemiološko-klinička studija Retovog sindroma u populaciji Srbije”**

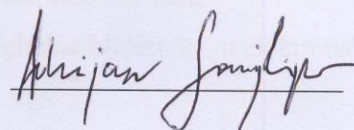
---

---

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 14.02.2014.



**Prilog 2.**

**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog  
rada**

Ime i prezime autora: Adrijan Sarajlija  
Broj upisa: 07-DS-EP-12  
Studijski program: Epidemiologija  
Naslov rada: "Epidemiološko-klinička studija Retovog sindroma u populaciji Srbije"  
Mentor: Prof. dr Milena Đurić  
Komentor: Doc. dr Darija Kisić Tepavčević

Potpisani: Adrijan Sarajlija

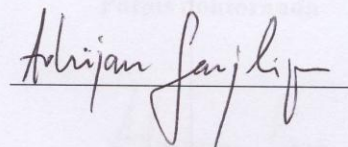
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.**

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 14.02.2014.



**Prilog 3.**

**Izjava o korišćenju**

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

“Epidemiološko-klinička studija Retovog sindroma u populaciji Srbije”

---

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 14.02.2014.

