

ГЕНЕРАЛИЗОВАНА ЕПИЛЕПСИЈА СА ФЕБРИЛНИМ НАПАДИМА ПЛУС: КЛИНИЧКА И ГЕНЕТСКА АНАЛИЗА КОД ТРИ СРПСКЕ ПОРОДИЦЕ

Александар Ј. РИСТИЋ¹, Славко ЈАНКОВИЋ¹, Grazzia ANNESI², Sara CARRIDEO²,
Ferdinanda ANNESI², Antonio GAMBARDELLA^{2,3}, Горан МАКСИМОВИЋ⁴,
Бранкица ГЊАТОВИЋ⁵, Игор ПЕТРОВИЋ¹, Никола ВОЈВОДИЋ¹, Драгослав СОКИЋ¹

¹Институт за неурологију, Клинички центар Србије, Београд; ²Институт неуролошких наука, Национални истраживачки савет, Piano Lago di Mangone, Cosenza, Италија; ³Институт за неурологију, Универзитет Magna Graecia, Catanzaro, Италија; ⁴Општа болница „Свети врач”, Бијељина, Република Српска; ⁵Општа болница, Приједор, Република Српска

КРАТАК САДРЖАЈ

Генерализована епилепсија са фебрилним нападима плус (ГЕФН+) је типичан генетички епилепсијски синдром с аутозомно доминантним типом наслеђивања и непотпуном пенетрацијом. Фенотипска експресија ГЕФН+ обухвата разноврстан спектар клиничких епилепсијских фенотипова, који укључује фебрилне нападе и различите типове афебрилних, генерализованих или парцијалних епилепсијских напада. До сада је описано неколико тзв. *point* мутација на четири генска локуса (*SCN1A*, *SCN2A*, *SCN1B* и *GABRG2*). Приказујемо резултате клиничке и генске анализе код три српске породице са фенотипским одликама ГЕФН+. Забележене су клиничке одлике, ЕЕГ, неуровизуелизациони налази и учињена је генска анализа (ради проналажења мутација на *SCN1A*, *SCN1B* и *GABRG2* генима) код 20 оболелих чланова три српске породице које нису у сродству (ММ, ОМ и КС), без познатог консангвинитета, од укупно 33 анализирана члана (77 живих код све три породице). Два болесника у породици ММ су боловала од епилепсије резистентне на лекове у тренутку спровођења студије, а код осам од 12 клинички испитаних болесника (66,6%) ток епилепсије је био повољан. Код два болесника прогноза је била неизвесна. Код пет од 12 испитаних чланова из породице ММ забележени су и други типови напада осим генерализованих тоничко-клоничких напада (ГТКН). Два члана породице ОМ боловала су од епилепсије резистентне на лекове, чија су најчешћа клиничка манифестација ГТКН који нису провоцирани фебрилношћу, а у варијабилној фреквенцији се догађају и апсансни напади. У породици КС забележени су фебрилни и афебрилни ГТКН, без других типова напада и са претпостављеним билинеалним наслеђем. Појава антиципације није забележена. Ни код једне анализирани особе, нити у једном од егзона *SCN1A*, *SCN1B* и *GABRG2* гена нису пронађене досад описане одговорне мутације. ГЕФН+ је врло хетероген клинички синдром и његово препознавање доприноси његовом детаљнијем сагледавању, што би требало да омогући његову потпуну интеграцију у већ дефинисане епилепсијске синдроме.

Кључне речи: генетика, наследне епилепсије, генерализована епилепсија са фебрилним нападима плус (ГЕФН+), српска популација

УВОД

Конвулзије удружене с епизодама фебрилности (фебрилним нападима) су релативно чест поремећај у раном детињству (пре шесте године), који је праћен малим ризиком за појаву епилепсије у одраслом добу [1]. Студије у Европи и Северној Америци показују учесталост фебрилних напада 2-5% код деце узраста до пет година [2]. Иако је генетички фактор за појаву фебрилних напада доказан, моногенски начин наслеђивања описан је код врло малог броја болесника, док је код већине породица утврђен полигенски модел [3].

Генерализована епилепсија са фебрилним нападима плус (ГЕФН+) је типичан генетички епилепсијски синдром с аутозомно доминантним типом наслеђивања и непотпуном пенетрацијом [4]. Фенотипска експресија ГЕФН+ обухвата разноврстан спектар клиничких епилепсијских фенотипова, који укључује фебрилне нападе и различите типове афебрилних, генерализованих (тоничко-клоничких, апсанских, миоклоничких и атоничких напада) [5] и афебрилних, парцијалних епилепсијских напада [6]. До сада је генским анализама потврђено неколико

тзв. *point* мутација на следећим генима: *SCN1A* (кодира за *Nav1.1* алфа субјединицу натријумског волтажног канала) [4], *SCN2A* (кодира за *Nav1.2* алфа субјединицу натријумског волтажног канала) [7], *SCN1B* (кодира за *Nav1.1* бета субјединицу натријумског волтажног канала) [8] и *GABRG2* (кодира за $\gamma 2$ субјединицу *GABA* рецептора) [9]. Међутим, код свега 1,7-10% описаних породица са ГЕФН+ утврђене су мутације на досад познатим одговорним генима [10]. Поред тога, упркос добро познатом генском дефекту, до данас не постоји универзално патофизиолошко објашњење велике клиничке варијабилности ГЕФН+.

После првих описа великих породица с овим поремећајем (највећи је тзв. тасманијски педигре, описан 1997. године [5]) и успешног мапирања генског дефекта, исти поремећај је приказан и у другим породицама различитог етничког порекла [4, 6]. Међународна лига за борбу против епилепсије (*International League Against Epilepsy – ILAE*) уврстила је овај ентитет у предлог нове класификације епилепсија као „синдрома у развоју” [11], где дијагностиковање није могуће док се не утврди да је више чланова породице захваћено овом болешћу.

ЦИЉ РАДА

Приказујемо резултате клиничке и генске анализе код три српске породице („педигра“) са аутозомно доминантним наслеђем и непотпуном пенетрацијом, код којих су утврђене фенотипске особине ГЕФН+.

МЕТОД РАДА

Код пробанда породице ОМ који је био хоспитализован на Институту за неурологију Клиничког центра Србије у Београду у октобру 2003. године због учесталих епилепсијских напада и код пробанда породица ММ и КС који су амбулантно прегледани због могуће тешке епилепсије, током клиничког испитивања утврђено је да постоји још чланова породице који су оболели од неког облика овог обољења. Обављен је информативни разговор (лично или телефонским путем) са пет чланова породице ОМ, 26 чланова породице ММ и шест чланова породице КС, а затим је нацртано генеолошко стабло до треће, односно четврте генерације. Са супружницима чланова породица захваћених овом болешћу разговарало се ради уочавања евентуалног билинеалног наслеђа. Испитиване породице нису биле у сродству.

После усменог пристанка урађено је детаљно непосредно клиничко испитивање код укупно 33 члана (од 77 живих чланова све три породице) обрађених породица на терену или у амбуланти. Клиничка обрада резултата испитивања захваћених чланова (укупно 20 болесника) обављана је на Институту за неурологију Клиничког центра Србије у Бео-

граду, у амбуланти Поликлинике КЦС, регионалној болници у Бијељини (Република Српска) и регионалној болници у Приједору (Република Српска). Протоколом клиничке процене добијени су анамнестички подаци о типовима и учесталости напада, подаци о порођајним траумама, раном психомоторном развоју и општем медицинском стању. Код сваког анализираниог члана обављен је и неуролошки преглед. Подаци о евентуалним порођајним траумама добијени су од мајки и потврђени у доступној медицинској документацији.

ЕЕГ је сниман на 40-каналном дигиталном ЕЕГ апарату за дуготрајно видео-ЕЕГ надгледање (тип *Profile, Oxford-Medilog*) са трајним видео-записом код свих пробанда и 11 захваћених чланова. Четири захваћена члана имала су и претходно урађене ЕЕГ снимке (медијана 2) који су били доступни за садашњу анализу.

Испитивање ендокранијума магнетном резонанцијом (*Magnetom SP63 4000; Siemens; 1.5 T*) обављено је код свих испитаника (пробанда), а испитивање ендокранијума компјутеризованом томографијом (*Somatom Plus 4 Power UFC, Siemens*) код три захваћена члана породица. Класификација епилепсијских напада код захваћених чланова је обављена према предлогу *ILAE* из 2001. године [10].

Молекуларна анализа

Код свих болесних и неких здравих чланова три српске породице урађена је молекуларна анализа ради проналажења мутација на *SCN1A*, *SCN1B* и *GABRG2* генима. Из леукоцита периферне крви ових

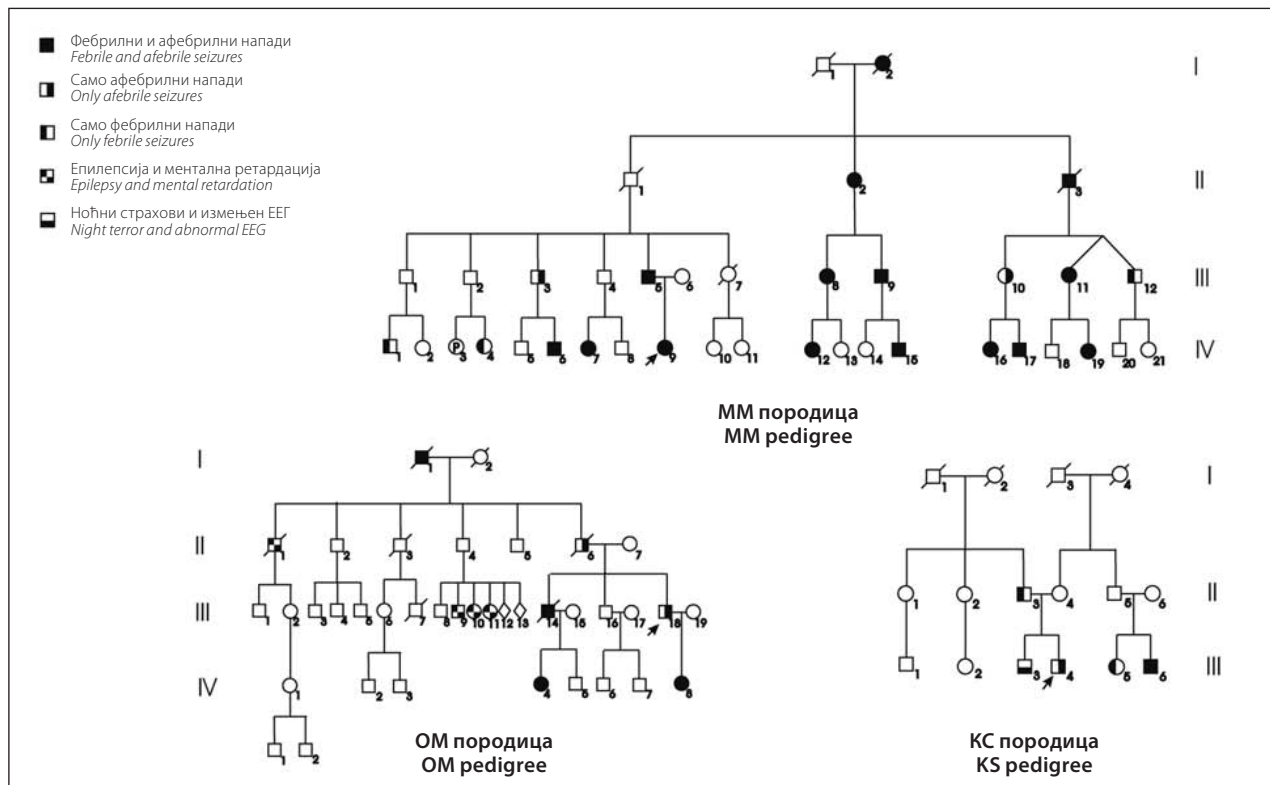


СХЕМА 1. Генеолошка стабла три српске породице са генерализованом епилепсијом са фебрилним нападима плус.
SCHEME 1. Genealogical trees of three Serbian families with generalized epilepsy with febrile seizures plus.

особа изолована је геномска ДНК по стандардној процедури, а затим је помоћу прајмера који су комплементарни интронским секвенцама амплификовано 26 егзона *SCN1A*, пет егзона *SCN1B* и девет егзона *GABRG2* гена (*AC00101227*, *GeneBank*, *Bethesda, MD* за *SCN1A*, *001037*, *GeneBank*, *Bethesda, MD* за *SCN1B* и *AF165124* за *GABRG2*). *PCR* је вршен у укупној запремини од 25 μ l са 100 ng геномске ДНК, концентрацијом од 0,005 μ mol за сваки нуклеотид и 1 U *Taq* ДНК полимеразе (*Promega*). Секвенца *PCR* продуката је одређена у оба правца коришћењем кита за секвенцирање *ABI PRISM* (*ABI*, *Foster City, CA*) и 377 ДНК аутоматског секвенатора (*Perkin Elmer-Applied Biosystem*).

РЕЗУЛТАТИ

Породична стабла три српске породице, без познатог консангвинитета, приказана су на схеми 1. Пробанд породице ММ је из Београда, а већина осталих чланова, као и најстарији познати предак потичу из Републике Српске. Породица ОМ такође потиче из Републике Српске, а пробанд и већина оболелих живе у Војводини. Сви чланови породице КС живе и потичу из централне Србије. Клиничке одлике испитаних чланова три породице приказане су у табели 1.

Породица ММ

Болесници *IV-9* (пробанд) и *IV-16* из породице ММ боловали су од епилепсије резистентне на лекове у тренутку спровођења студије. Утврђено је да цела породица у четири генерације има укупно 37 чланова, од којих се за 20 зна да је имало или има епилепсију са фебрилним нападима или само фебрилне нападе. Од 32 жива члана породице 18 је у тренутку испитивања имало епилепсију са фебрилним нападима или само фебрилне нападе. Испитано је 12 оболелих чланова (66,7%), док је о осталима узета детаљна хетероanamнеза. Код осам од 12 клинички испитаних болесника (66,6%) утврђен је повољан ток епилепсије (не примају антиепилепсијске лекове, а нису имали нападе више од две године). Код два болесника прогноза је била неизвесна, било због децјег узраста (*IV-17*), било због мале фреквенције напада (*IV-6*). Код три оболела и клинички анализирана члана породице ММ (25%) фебрилни напади су били једина клиничка манифестација, а код два болесника (16,6%) су утврђени само генерализовани тоничко-клонички напади (ГТКН) којима није претходила фебрилност. Код пет од 12 испитаних чланова породице ММ уочени су и други типови напада осим ГТКН (Табела 1).

Оболели женски члан *I-2* из породице ММ је живела 90 година и код ње су се јављали ГТКН провоцирани фебрилношћу, као и афебрилни ГТКН који су престали у 20. години без лечења. И поред детаљне анамнезе, нису добијени подаци о епилепсији или фебрилним нападима међу њеним живим крвним сродницима, нити прецима.

Болесник *II-3* је имао фебрилне нападе и веома учестале (седам-осам пута месечно) афебрилне ГТ-

КН до 30. године, а био је лечен примидоном. Болесници *III-8* и *III-9* нису били доступни за детаљно испитивање, али се у телефонском разговору сазнало за фебрилне нападе и ГТКН без фебрилности до 13, односно 20. године, са променљивом учесталошћу. Нису добијени подаци о другим типовима епилепсијских напада. Подаци за болеснике *IV-12* и *IV-15* су такође добијени у телефонском разговору, али је, уз то, прегледана и медицинска документација, у којој се налази поуздан запис о потврђеној епилепсији.

Код пробанда (*IV-9*) и њеног оца (*III-5*) уочени су парцијални напади са секундарном генерализацијом (девијација главе и погледа у страну, односно визуелна аура на почетку ГТКН), а код болесника *IV-16* сложени парцијални напади са девијацијом главе, помућењем свести, оробукалним и мануелним аутоматизмима без секундарне генерализације. Код ње су такође забележени и сложени фебрилни напади са продуженим или понављаним нападима у 24-часовном периоду. Ни за једног члана породице није добијен податак о епилепсији код супружника и њихових најближих сродника. У другој генерацији је оболело 66%, у трећој 63,6%, а у четвртој 47,6% чланова породице.

Болесник *III-2* је имао само један ГТКН (у 44. години), који је био провоциран апстиненцијалним синдромом у склопу хроничног алкохолизма. Код свих испитаних чланова породице неуролошки преглед, скор на мини-ментал тесту и „психички интервју” били су нормални. Код пробанда (*IV-9*) и чланова *III-2* (имао је провоцирани ГТКН у нејасним околностима, те се у анализи није сматрао оболелим чланом), *III-3* и *III-10* налази ендокранијума магнетне резонанције (МР) и компјутеризоване томографије (КТ) били су нормални. Код три оболела члана с „активном фазом” болести нађене су патолошке промене на налазу ЕЕГ.

Породица ОМ

Пробанд породице ОМ (*III-18*) боловао је од епилепсије резистентне на лекове, чија су најчешћа клиничка манифестација ГТКН који нису провоцирани фебрилношћу, а у варијабилној фреквенцији се догађају и апсансни напади. На налазу ЕЕГ је уочен комплекс шиљак-таласа од 4 до 6 Hz. Налаз ендокранијума МР је био нормалан.

Код болесника *I-1* у породици ОМ епилепсијски напади променљиве учесталости су престали у 21. години без лечења, а живео је 79 година. Члан *II-6* је живео 75 година и имао седам ГТКН без фебрилности у одраслом периоду. Брат пробанда (*III-14*) је умро у 41. години због карцинома колоне. Имао је неколико епизода фебрилних напада од четврте године и две епизоде ГТКН без фебрилности. После осме године није имао епилепсијске нападе.

За чланове *II-1*, *III-9*, *III-10* и *III-11* породице ОМ постоје подаци о менталној ретардацији и епилепсији, али нису били доступни да се прегледају. Чланови *II-1*, *II-2*, *II-3* и *II-4* нису били доступни за даље испитивање, као ни чланови њихових породица, нити су постојали поуздани хетероanamнестички подаци

ТАБЕЛА 1. Клиничка обележја захваћених чланова у овој студији.
TABLE 1. Clinical features of subjects in this study.

Број у породици Pedigree reference	Старост Age	ГТКС (фреквенција) GTCS (frequency)	Године почетка напада Onset (years)	Напади везани за фебрилност Fever	Године престанка напада Offset (years)	Други типови напада Other seizure types	Фреквенција других типова напада Frequency of other seizures	ЕЕГ EEG
Породица ММ / MM pedigree								
IV-9 (proband)	21	>1 недељно >1 per week	13 месеци 13 month	код 3 напада 3 seizures	>21 (нису престали) >21 (did not stop)	ПНСГ, миоклонички PSSG, myoclonic	>1 месечно >1 month	ШТК, ПШТК SWC, PSSWC
III-5	52	2 месечно 2 per month	4	једном once	12	ПНСГ PSSG	>1 месечно >1 month	нормалан normal
IV-1	16	једном once	2	једном once	2	-	-	нормалан normal
IV-4	17	једном once	2	једном once	2	-	-	није урађен not performed
III-3	46	једном once	44	никада never	44	-	-	нормалан normal
IV-6	16	>2 годишње >2 per year	4	до 12. године up to 12 years	>16 (нису престали) >16 (did not stop)	-	-	ШТК SWC
IV-7	19	2 напада 2 seizures	3	једном once	6	астатични astatic	једном once	нормалан normal
I-2	75	>3 годишње >3 per year	2	до 10. године up to 10 years	20	апсансни absences	>50	није урађен not performed
III-10	41	6 укупно 6 in total	5	никада never	8	-	-	нормалан normal
IV-16	8	>2 месечно >2 per month	2	>50%	>8 (нису престали) >8 (did not stop)	КПН, апсансни CPS, absences	>20	ШТК од 3 Hz, Ш и ОТ на ДУ SWC at 3 Hz, S and ShW on DSB
IV-17	3	3 укупно 3 in total	8 месеци 8 months	увек always	>3 (нису престали) >3 (did not stop)	-	-	није урађен not performed
III-12	40	3 укупно 3 in total	4	увек always	4	-	-	није урађен not performed
Породица ОМ / OM pedigree								
III-18	43	1-2 недељно 1-2 per week	6	непознато unknown	>43 (нису престали) >43 (did not stop)	апсансни absences	варијабилно variable	ШТК од 4 до 6 Hz на ДУ SWC at 4-6 Hz on DSB
IV-8	14	2 напада 2 seizures	4	једном once	13	апсансни, миоклонички absences, myoclonic	>100	ДУ DSB
IV-4	20	>10 месечно >10 per month	одојче infancy	до 7. године up to 7 years	>20 (нису престали) >20 (did not stop)	-	-	ШТК SWC
Породица КС / KS pedigree								
III-4	23	7 укупно 7 in total	20	никада never	>23 (нису престали) >23 (did not stop)	-	-	генерализовани Ш и ОТ generalized S and ShW
III-3	26	-	-	-	-	Pavor nocturnus Night terrors	?	генерализовани ШТК generalized SWC
II-3	50	3 укупно 3 in total	3	увек always	7	-	-	није урађен not performed
III-5	20	2 укупно 2 in total	2.5	увек always	4	-	-	нормалан normal
III-6	10	неколико several	6	<50%	>10 (нису престали) >10 (did not stop)	-	-	генерализовани Ш и ОТ generalized S and ShW

ГТКС – генерализовани тоничко-клонички напади, КПН – клонички парцијални напади, ПНСГ – парцијални напади са секундарном генерацијом, ШТК – комплекс полишљак-таласа, Ш – шљак, ОТ – оштри талас
GTCS – generalized tonic-clonic seizures, CPS – complex partial seizure, PSSG – partial seizures with secondary generalization, SWC – spike wave complex, DSB – diffused slow background, PSSWC – polyspike wave complex, S – spike, ShW – sharp wave

о њиховом здравственом стању. Уочена пенетрабилност у овој породици је била око 30% у бројним генерацијама (другој и трећој). Код свих испитаних чланова на налазу ЕЕГ уочене су патолошке промене (Слика 1). Неуролошки налаз код свих прегледаних чланова породице ОМ је био нормалан. Супружници чланова II-7, III-15 и III-17 нису имали епилепсијске нападе, нити су их имали њихови најближи сродници.

Породица КС

Отац пробанда (II-3) и члан породице III-5 су имали неколико фебрилних напада до четврте, односно седме године, док је члан III-6 имао неколико фебрилних и неколико афебрилних напада до 10. године. Пробанд III-4 породице КС је имао укупно седам епилепсијских напада без фебрилности, који су успешно лечени валпроатом и ламотригином.

За члана III-3 у породици КС нема података о епилепсијским нападима (Табела 1), међутим, због породичне оптерећености и измењеног налаза на ЕЕГ, неколико пута је био лечен фенобарбитоном. Ни код једног од афектираних чланова није било података о другим типовима епилепсијских напада осим фебрилних, односно афебрилних ГТКН. За родитеље чланова

II-3 и II-4 није било података о епилепсијским нападима. Код три члана породице КС налаз ЕЕГ је био нормалан. Налаз ендокранијума МР код пробанда је био нормалан. На слици је приказано само језгро породице због веома мале пенетрабилности.

Ни за једног од анализираних чланова три породице нису добијени подаци о порођајној трауми, моздањој инфекцији или повреди главе. Ни код једне породице није утврђена антиципација. Ни код једног анализираних члана, ни у једном од егзона *SCN1A*, *SCN1B* и *GABRG2* гена нису утврђене мутације.

ДИСКУСИЈА

На основу начина наслеђивања, непотпуне пенетрабилности и хетерогеног фенотипа епилепсије у коме су фебрилни напади комбиновани с различитим типовима напада, три анализираних породице припадају ГЕФН+ спектру [4-10].

Код великог броја чланова породица фебрилни напади су се настављали после шесте године. Код неких чланова су почињали у стадијуму одојчета и настављали се ГТКН без фебрилности, што би одговарало раније описаном фенотипу фебрилних напада плус (ФН+) [5]. Такође, ФН+ су код појединих афек-



СЛИКА 1. Генерализована пражњења комплекса шилјак-таласа од 4 до 6 Hz код пробанда породице ОМ.
FIGURE 1. Generalized discharges of the spike-wave complexes at 4-6 Hz of proband of the OM pedigree.

тираних појединачних били удружени са другим типовима епилепсијских напада (миоклоничким, апсанским, астатичним).

Шефер (*Scheffer*) и Берковић (*Berkovic*) [5] су за ове наследне синдроме предложили назив „генерализована епилепсија са фебрилним нападима плус“ (ГЕФН+), након чега је ентитет препознат у многим деловима света, што је подстакло генетичко анализирање и каснију идентификацију одговорних генских мутација [4, 6, 8, 9]. Првобитном опису фенотипа ГЕФН+ аутори су додали и афебрилне парцијалне нападе у виду хемиклоничних или верзивних напада [4, 6], односно нападе који потичу из темпоралног режња [12]. Уочавање фенотипова са парцијалним нападима довело је у питање и номенклатуру ентитета, па су неки аутори предложили увођење термина „аутозомно доминантна епилепсија са фебрилним нападима плус“ (АДЕФН+) [13].

Сложени парцијални напади и парцијални напади са секундарном генерализацијом уочени су код три члана породице ММ, али нису уочени код чланова друге две описане породице, што говори о фенотипској интрафамилијарној варијабилности и варијабилности међу анализираним породицама. Груписање типова напада само у једној породици (парцијални и сложени парцијални напади у породици ММ) може да указује и на интерфамилијарну генетску хетерогеност.

Одсуство епилепсијских синдрома код супружника и њихових крвних сродника чини вероватноћу билинеалног или сложеног наслеђивања занемарљиво малом код породица ММ и ОМ. Наравно, вероватноћа фенотипске варијабилности у породицама са фреквенцијом фебрилних напада од 3% [14] не искључује могућност генске хетерогености унутар једне породице, нарочито код појединачних са једним изолованим фебрилним нападом [3], као што је случај код два члана породице ММ. Међутим, тиме не би био нарушен однос велике пенетрабилности у истој породици, која би, као и „обогата“ клиничка слика додатним нападима, пре говорила у прилог моногенском наслеђивању код породице ММ са ГЕФН+ фенотипом и евентуалним појединачним фенотипима. Иако на фенотипске варијабилности у истој породици могу указивати и евентуални обавезни преносиоци (*III-1*, *III-2* и *III-4*), недвосмислена епилепсија код четири члана тог огранка пре указује на променљиву експресивност, односно непотпуну пенетрабилност истог гена, стављајући у контекст клинички здравог претка (*II-1*).

Породица ОМ такође фенотипски прати образац аутозомно доминантног наслеђивања. Уочена мала пенетрабилност у овој породици недовољна је да оповргне овакав закључак и може се делимично објаснити вероватноћом аналитичке грешке услед недоступности довољно поузданих података код већег броја чланова. Удруженост менталне ретардације и епилепсије уочене у овој породици није неконзистентна са фенотипом ГЕФН+ [4], али се такође може приписати аналитичкој предрасуди [14, 15]. Варијације у тежини епилепсије, типовима напада и налазом ЕЕГ нису изазване спољашњим фактором, већ се, вероватно, могу приписати фенотипској променљивости због ефекта других модификујућих гена [5].

Билинеално преношење које је претпостављено код породице КС, могућност другачијег модалитета наслеђивања од доминантног и одсуство других типова напада могу довести у сумњу моногенски тип наслеђивања какав се налази код ГЕФН+ фенотипа [16]. Поред тога, код малог броја чланова породице може да се претпостави полигенски ефекат [3]. Међутим, ГЕФН+ синдром у јапанској популацији, са одговорном мутацијом на *SCN1A* гену, описан је у спорадичном случају и код појединачних са аутозомно доминантним наслеђем у „малој“ породици која није у сродству с претходном [6]. Под претпоставком моногенског наслеђивања у овој породици, може се говорити о најмање два мутирана гена и поред привидно јединственог ГЕФН+ фенотипа, што је показано и у другим студијама [5, 10].

Чињеница да ни код једног од анализираних оболелих чланова три породице нису идентификоване одговорне мутације у *SCN1A*, *SCN1B* и *GABRG2* гену јесте у складу са скорим запажањима да је ГЕФН+ изазван познатим мутацијама у малом проценту [10, 17], чиме је приложен још један доказ значајној генетској хетерогености овог поремећаја.

ЗАКЉУЧАК

Одгонетањем патогенезе наследних епилепсија могуће је расветлити патогенезу епилепсија уопште. Недвосмислено је да су наследне епилепсије ретке, али познавање клиничке хетерогености код моногенских епилепсија помаже уочавању наслеђа код епилепсијских синдрома у општој популацији. ГЕФН+ је поремећај сложене природе, са снажном генетском основом, непотпуном пенетрацијом и фенотипском и генотипском хетерогеношћу, те његово препознавање доприноси његовом детаљнијем сагледавању, што би требало да омогући његову потпуну интеграцију у већ дефинисане епилепсијске синдроме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Commission on classification and terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989; 30:389-99.
2. Verity CM, Butler NR, Golding J. Febrile convulsions in a national cohort followed up from birth: prevalence and recurrence in the first five years of life. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985; 290:1307-10.
3. Iwasaki N, Nakayama J, Hamano K, et al. Molecular genetics of febrile seizures. *Epilepsia* 2002; 43(Suppl 9):32-5.
4. Baulac S, Gourfinkel-An I, Picard F, et al. A second locus for familial generalized epilepsy with febrile seizures plus maps to chromosome 2q21-q23. *Am J Hum Genet* 1999; 65:1078-85.
5. Scheffer IE, Berkovic SE. Generalized epilepsy with febrile seizures plus: a genetic disorder with heterogeneous clinical phenotypes. *Brain* 1997; 120:479-90.
6. Sugawara T, Mazaki-Miyuzaki E, Ito M, et al. Nav1.1 mutations cause febrile seizures associated with afebrile partial seizures. *Neurology* 2001; 57:703-5.
7. Sugawara T, Tsurubuchi Y, Lal Agarwala K, et al. A missense mutation of the Na⁺ channel α II subunit gene Nav1.2 in a patient with febrile and afebrile seizures causes channel dysfunction. *PNAS* 2001; 98(11):6384-9.
8. Wallace RH, Wang DW, Singh R, et al. Febrile seizures and generalized epilepsy associated with a mutation in the Na⁺ channel β 1 subunit gene SCN1B. *Nat Genet* 1998; 19:366-70.

9. Baulac S, Huberfeld G, Gourfinkel-An I, et al. First genetic evidence of GABAA receptor dysfunction in epilepsy: a mutation in the $\gamma 2$ -subunit gene. *Nat Genet* 2001; 28:46-8.
10. Bonnani P, Malcarne M, Moro F, et al. Generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+): Clinical spectrum in seven Italian families unrelated to SCN1A, SCN1B, and GABRG2 gene mutation. *Epilepsia* 2004; 45(2):149-58.
11. Engel J. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia* 2001; 42(6):796-803.
12. Singh R, Scheffer IE, Crossland K, Berkovic SF. Generalized epilepsy with febrile seizures plus: a common childhood-onset epilepsy syndrome. *Ann Neurol* 1999; 45:75-81.
13. Hirose S, Mohny RP, Okada M, et al. The genetics of febrile seizures and related epilepsy syndromes. *Brain Dev* 2003; 25:304-11.
14. Johnson WG, Kugler SL, Stenroos ES, et al. Pedigree analysis in families with febrile seizures. *Am J Med Genet* 1996; 61:345-52.
15. Abou-Khalil B, Ge Q, Desai R, et al. Partial and generalized epilepsy with febrile seizures plus and a novel SCN1A mutation. *Neurology* 2001; 57:2265-72.
16. Escayg A, MacDonald BT, Meisler M, et al. Mutation of SCN1A encoding for neuronal sodium channel, in two families with GEFS+2. *Nat Genet* 2000; 24:343-5.
17. Gerard F, Pereira S, Robaglia-Schlopp A, et al. Clinical and genetic analysis of a new multigenerational pedigree with GEFS+ (Generalized Epilepsy with Febrile Seizures Plus). *Epilepsia* 2002; 43(6):581-5.

GENERALIZED EPILEPSY WITH FEBRILE SEIZURES PLUS: CLINICAL AND GENETIC ANALYSIS OF THREE SERBIAN FAMILIES

Aleksandar J. RISTIĆ¹, Slavko JANKOVIĆ¹, Grazia ANNESI², Sara CARRIDEO², Ferdinanda ANNESI², Antonio GAMBARDELLA^{2,3}, Goran MAKSIMOVIĆ⁴, Brankica GNJATOVIĆ⁵, Igor PETROVIĆ¹, Nikola VOJVODIĆ¹, Dragoslav SOKIĆ¹

¹Institute of Neurology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade; ²Institute of Neurological Sciences, National Research Council, Piano Lago di Mangone, Cosenza, Italy; ³Institute of Neurology, University Magna Graecia, Catanzaro, Italy; ⁴General Hospital „Sveti Vrači“, Bijeljina, Republic of Srpska; ⁵General Hospital, Prijedor, Republic of Srpska

ABSTRACT

The results of clinical and genetic analysis of three Serbian families (pedigrees) with autosomal dominant inheritance, incomplete penetrance and phenotypic features of GEFS+ are presented in this study. Mutation analysis of the SCN1A, SCN1B and GABRG2 genes was performed in all affected and some unaffected members of these three families. Twenty-six exons of SCN1A, five exons of SCN1B and nine exons of GABRG2 were individually amplified using primers based on intronic sequence. PCR products were sequenced in both forward and reverse directions. Subsequently, the samples were run and analyzed using 377 DNA automated sequencer. No consanguinity was noticed. The MM and OM family members live in Republic of Srpska while KS family originates from the central Serbia. No mutations of the exons of SCN1A, SCN1B and GABRG2 genes were found in tested subjects. Obligate carriers in MM family (III-1, III-2, and III-4) exhibit variable expressivity or incomplete penetrance rather than proof of polygenetic inheritance. OM pedigree follows autosomal dominant pat-

tern despite reduced penetrance. Bilinear transmission may assume the possibility of multigenetic mode of inheritance in KS family. The fact that all affected members in three Serbian families were negative for mutations in SCN1A, SCN1B and GABRG2 genes strongly supports the hypothesis of significant genetic heterogeneity of GEFS+. Recognizing GEFS+ on clinical grounds contributes to more precise integration of this syndrome into already existing classification of epileptic syndromes.

Key words: genetics, inherited epilepsy, generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+), Serbian population

Dragoslav SOKIĆ
Institut za neurologiju
Klinički centar Srbije
Dr Subotića 6, 11000 Beograd
E-mail: dsokic@sezampro.yu