

Tajana Cvjetković Grginović*Logopedska ambulanta, OB Zadar*

Mucanje i genetika

Stuttering and Genetics

Pregledni rad: UDK 616.89-008.434:575

DOI: <https://doi.org/10.31299/log.12.1.1>

Sažetak

Mucanje je neurorazvojni poremećaj složene etiologije, koja obuhvaća genetičke i okolinske komponente. Istraživanja pokazuju kako su u podlozi mucanja genetički faktori koji dovode do sklonosti mucanju, a ta sklonost se manifestira ako u okolini postoje umjereni okidači koji dovode do pojave mucanja (Rautakoski i sur., 2012).

Prema istraživanjima, ako postoji mucanje unutar obiteljske anamneze, ono se može naslijediti - i s majčine i s očeve strane. Također, poznato je kako su dječaci skloniji razvoju mucanja u odnosu na djevojčice, indicirajući tako ulogu spola u početku, jakosti i nasljednosti mucanja. Gledajući samo obiteljsku anamnezu osobe koja muca, 70 % je moguće da je netko unutar obiteljskog stabla mucao. Kao dodatak tome idu u prilog teze iz istraživanja blizanaca. Istraživanje trojki pokazalo je višu razinu pojave mucanja kod jednojajčanih (20-90 %) u usporedbi s dvojajčanim blizancima (3-19 %) (Wittke-Thomson i sur., 2007). Utvrđena je povezanost 4 različita gena na nekoliko različitih kromosoma. Genetičke studije identificirale su varijante na genima GNPTAB, GNPTG, NAGPA i AP4E1, koje su povezane s pojavom mucanja (Devi i sur., 2021). Nadalje, dokazano je kako su neka perzistentna mucanja uzrokovana varijantama gena koji ne upravljaju govornim procesima, već metaboličkim putovima. Svi navedeni geni uključeni su u proces intracelularnog trgovanja, a deficiti u ovoj staničnoj funkciji su prepoznani kao uzročnici raznih neuroloških poremećaja (Frigerio-Domingues i sur., 2019). Neurološka perspektiva otkriva hiperaktivnost dopamina i abnormalnosti bijele tvari koje se uočavaju u mucanju, ukazujući na moguću neurokemijsku podlogu s još nejasnim mehanizmom djelovanja (Devi i sur., 2021).

Ključne riječi:*mucanje, genetika, metabolički putovi, bijela tvar*

Summary

Stuttering is a neurodevelopment disorder of complex etiology and contains genetic and environmental components which contribute to the occurrence of stuttering. Previous studies show that genetic factors lead to the predisposition for stuttering which manifests if there are moderate environmental effects that lead to the occurrence of stuttering (Rautakoski et al., 2012).

If there is a family history of stuttering, it can be inherited from mother's and father's side. We also know that boys are more likely to develop stuttering compared to girls, indicating that gender plays a role in the onset, severity and heredity of stuttering. Looking at the family history of a stuttering person, there is a 70% chance that someone inside the family tree had stuttered. The study of triplets showed a higher level of stuttering in identical twins (20-90%), compared to fraternal twins (3-19%) (Wittke-Thomson et al., 2007). So far, the connection of 4 different genes located on several different chromosomes has been established. Genetic studies have identified mutations in the GNPTAB, GNPTG, NAGPA and AP4E1 genes that are connected with the occurrence of stuttering (Devi et al., 2021). Furthermore, there are evidences that persistent stuttering is sometimes caused by mutations in genes which do not control speech processes, but methabolic pathways. All these genes are involved in the process of intracellular trafficking, and deficits in this cellular function have been identified as causes of various neurological disorders (Frigerio-Domingues et al., 2019). Neurological perspective recognises hyperactivity of dopamine and white matter abnormalities observed in stuttering, providing a possible neurochemical basis with the yet unclear mechanism (Devi et al., 2021).

Key words:*stuttering, genetics, methabolic pathways, white matter*

UVOD

Kako bismo bolje razumjeli mucanje, treba sagledati sve što znamo o genetičkoj podlozi mucanja, o njegovu početku i perzistentnosti. Upravo su genetičku poveznicu s mucanjem istraživači uspjeli iskoristiti za objašnjavanje pojave mucanja u svim kulturama i unutar različitih obitelji. U ovom preglednom radu prikazano je ono što je poznato o mucanju i njegovoj genetičkoj podlozi, o čemu se u zadnja četiri desetljeća neprestano akumuliraju novi dokazi - od istraživanja blizanaca, obitelji i klastera, do „linkage“ analize i cjelogenomske asocijacijske studije.

Gledajući s kliničke strane, roditelji učestalo ispituju logopede o teorijama uzroka mucanja, pogotovo kolika je vjerojatnost da je netko iz obitelji (šire i/ili uže) prenio mucanje na sljedeći naraštaj i na koji način se to odvija. Upravo zbog toga, dio je posla logopeda ohrabriti roditeljsku znatiželju i odgovoriti na pitanja uz potvrdu znanstvenim dokazima. Cilj ovog preglednog rada je iznijeti čvrste dokaze o povezanosti mucanja i genetike, navodeći gene u podlozi mucanja i proteine koje ovi geni kodiraju, te navesti problemska pitanja istraživanja koja još nisu riješena.

Istraživanja posvajanja i blizanaca

Istraživanja posvajanja su kroz prošlost provedena na manjem broju ispitanika, zbog toga nema statistički značajnih informacija. Frigerio-Domingues i Drayna (2017) opisali su rezultate iz dvaju istraživanja posvajanja (Berstein, 1961. i Felsenfeld i Plomin, 1977), iz druge polovice 20. stoljeća. Ta istraživanja nisu bila statistički značajna, ali upućuju na indirektno dokaze o nasljednosti mucanja. Istraživači nisu pronašli niti jedan dokaz da će djeca posvojena od roditelja koji mucaju, mucati više u odnosu na djecu iz opće populacije. Drugim riječima, mucanje se ne razvija imitiranjem roditelja koji mucaju. Ti nalazi uputili su istraživače na to da hipotetski uzrok razvoja mucanja povežu s genetičkim čimbenicima.

Istraživanje blizanaca jedan je od prvih načina istraživanja veze između mucanja i genetike. Objavljeno je devet blizanačkih studija o mucanju, koje su uključivale subjekte iz vrlo različitih jezičnih sredina (Frigerio-Domingues i Drayna, 2017). Također, razlikovale su se i po broju ispitanika od <100 do više od 20.000 subjekta. Primijenjene su različite metode konstatacija i različiti uključujući kriteriji, kao i različita dijagnostička mjerenja i statističke metode u utvrđivanju nasljednosti. Zato je metaanaliza ovih istraživanja bila teško izvediva, a samo nekolicina istraživanja je izravno usporediva. Prema Frigerio-Dominguesu i Drayni (2017), ipak je moguće izvući nekoliko zbirnih zaključaka. Prvo, jednojajčani blizanci učestalije mucaju u odnosu na dvojajčane, o čemu izvještavaju i Felsenfeld i suradnici (2000), kao i Kraft i Yairi (2011), što potvrđuje postojanje genetičke komponente u predispoziciji za pojavu mucanja. Drugo, treba uzeti u obzir kako je podudarnost za razvoj mucanja između jednojajčanih blizanaca manja od 1, što pokazuje kako genetički faktor nije dostatan za objašnjavanje

razvoja mucanja. Utjecaj okoline se ovdje nameće kao logički zaključak, što potvrđuje i Rautakoski i suradnici (2012), naglašavajući kako nasljeđe igra veliku ulogu u pojavi i kroničnosti mucanja, ali uz utjecaj i okoline. Treće, većina istraživanja pokazuje visoku nasljednost (više od 0.80), bez obzira na varijacije u dobivenim rezultatima (tablica 1, prema Frigerio-Domingues i Drayna, 2017).

Mnogi istraživači (Cox i sur., 1984; Ambrose i sur., 1993; Viswanath i sur., 2004; prema Suresh i sur., 2006) predlažu model multifaktorijske poligenetičke transmisije s glavnim lokusom, što bi značilo da ne postoji jedna važna pogreška u nasljednoj poruci koja se dominantno prenosi i uzrokuje mucanje, već mnogo faktora utječe na razvoj mucanja (npr. fiziološki, jezični, psihološki, okolinski). Istraživači su nastavili tražiti odgovore - istražujući mucanje unutar obitelji.

Tablica 1. Istraživanje blizanaca

Istraživanje (god), jezik	Broj osoba	Procjena nasljednosti
Godai i sur. (1976), talijanski	126	n.p.
Howie (1981), engleski	60	n.p.
Andrews i sur. (1991)	7620	.71
Felsenfeld i sur. (2000)	37	.70
Ooki (2005), japanski	3 792	.80-.85
Dworzynski i sur. (2007), engleski	12 892	.60
van Beijsterveldt i sur. (2010), nizozemski	21 366	.42
Fagnani i sur. (2011), danski	22 216	.81-.84
Rautakoski i sur. (2012), finski	2 289	.82

Istraživanja obitelji i spola

Manja i veća obiteljska istraživanja pokazuju kako se nasljeđe za mucanje pojavljuje unutar obitelji. Ta istraživanja ne samo da su dala uvid u učestalost mucanja, već i u prisutnost mucanja u obiteljskom stablu, kao i u razlike u incidenciji među spolovima (Kraft i Yairi, 2011). Kidd i suradnici (1981) pokazali su kako osoba iz obitelji sa samo jednim članom koji muca, ima veći rizik za razvoj mucanja u odnosu na osobu iz opće populacije.

Ambrose, Yairi i Cox (1993) istraživali su frekvenciju pojave mucanja u obiteljskom stablu kod 69 djece, u dobi od 2,01 do 6,03 godina, primjenjujući segregacijsku analizu. Pronašli su kako među djecom koja mucaju, oko 70 % njih u svom obiteljskom stablu imaju osobe koje su mucale. Nadalje, otkrili su kako je mucanje kod roditelja povećavalo rizik od pojave mucanja kod djece, tako da je učestalost mucanja bila značajno veća u prvom stupnju srodstva (roditelji, brat ili sestra) u odnosu na drugi ili treći stupanj srodstva. Navedeno se poklapa s ranijim istraživanjem koje su proveli Kidd i suradnici (1981).

Premda mucanje čini klastere u obitelji, to isto ne vrijedi za jačinu mucanja. Primjerice, ako dijete unutar svoje obitelji ima nekoga tko muca, vjerojatnost je veća da

će i ono samo mucati. Ako taj član obitelji vrlo izraženo muca, jakost njegovog mucanja ne utječe na veći rizik od prenošenja mucanja ili na jačinu djetetova mucanja (Scott, 2006).

Kao i u većini neurorazvojnih poremećaja, mucanje je učestalije kod muškaraca nego kod žena. Prema Felsenfeldu (2002), omjer je između muškog i ženskog spola 4:1 kod starije djece i odraslih. Devi i suradnici (2018) u svojem istraživanju, provedenom u Indiji, na 74.544 školske djece, primjenjujući analizu genetičkih indeksa u obitelji, pronašli su isti omjer 4:1, na stranu muškog spola.

Kidd i suradnici (1978) identificirali su način nasljeđivanja koji objašnjava omjer između spolova. Premda je istraživanje iz prve polovice dvadesetog stoljeća, njegovu važnost je i danas bitno istaknuti u potvrdi spolne incidencije, uz sljedeće zaključke: 1. muški spol je učestalije zahvaćen u odnosu na ženski spol; 2. muške osobe koje mucaju (OKM) imaju više sinova koji mucaju u odnosu na kćeri koje mucaju – 23 % sinova, 10 % kćeri; 3. ženske OKM imaju više sinova koji mucaju u odnosu na kćeri koje mucaju – 39 % sinova, 16 % kćeri; 4. ženske OKM imaju proporcionalno jednak broj očeva koji mucaju (22 %), kao i muške OKM (21 %), ali zato imaju dva put veću učestalost majki koje mucaju (13 %), u odnosu na muške OKM (6 %); 5. 78 % odraslih muških probanda (osoba od koje kreće genetičko istraživanje), imale su oba roditelja koji nisu bili nositelji, u odnosu na 70 % odraslih ženskih probandi; 6. u 7 slučajeva vjenčanih parova koji mucaju, pronašli su 5 od 8 sinova (64 %) i 5 od 10 kćeri (50 %), koji su ikad mucali.

Kao rezultat navedenog, zaključili su kako je omjer muških i ženskih OKM pod utjecajem slabije genetičke otpornosti muškaraca. Objašnjavaju kako žene trebaju veće genetičko opterećenje da bi počele mucati. Ambros i Yairi (1997) postavili su pitanje zašto ženski spol, jer treba više faktora da bi počele mucati, ima veću tendenciju oporavka. Prema njima, perzistencija uključuje dodatni genetički faktor: ženski spol manje vjerojatno ima i/ili pokazuje ovu poticajnu crtu perzistencije, dok muški spol moguće ima niži prag („*threshold*“) za pojavu mucanja u odnosu na ženski spol.

Biološka genetika

Blizanačka, obiteljska istraživanja i istraživanje posvajanja pokazuju visok stupanj nasljednosti u mucanju. Potvrđeno je kako se Mendelova segregacija ne pojavljuje u tipičnom obliku, što čini identifikaciju mutacija još težom. Znamo da postoji povezanost pojave mucanja i određenih varijanti gena, smještenih na nekoliko različitih kromosoma. Kako bi se identificirao dio DNA na poznatoj kromosomskoj lokaciji - urođen svim članovima obitelji zahvaćenim poremećajem koji se istražuje, a da nije urođen članovima obitelji koji nisu zahvaćeni ispitivanim poremećajem - istraživači koriste analizu vezanosti gena (Kraft & Yairi 2011) i identifikaciju mutacija gena povezanih s mucanjem.

Analiza vezanosti gena (“Linkage“ analiza)

U nekoliko studija koristila se analiza vezanosti gena u istraživanju obitelji s velikim brojem članova koji mucaju. Shugart i suradnici (2004) pronašli su povezanost mucanja s proksimalnim 18q kromosomom u obiteljima u Sjevernoj Americi i Europi. Riaz i suradnici (2005) proveli su cjelogenomsko istraživanje kojim su pokazali vezanost s kromosomima 1, 5, 7 i 12, a najkonzistentniji dokazi vežu se uz kromosom 12. Frigerio-Domingues i suradnici (2014) identificirali su povezanost s kromosomom 10q21. Koristili su cjelogenomske studije povezanosti, na 43 brazilske obitelji s anamnezom perzistentnog mucanja. U individualnim pakistanskim obiteljima, Raza i suradnici (2010) pronašli su značajnu povezanost samo na kromosomima 3q13.2-3q13.33. Dvije godine poslije pronašli su povezanost s kromosomskim lokacijama na 3q i 15q i novim lokacijama na 2p, 3p, 14q, kao i različite dijelove na 15q u obiteljima iz Kameruna (Raza i sur., 2012). Istraživali su i nepovezane obitelji iz Pakistana i pronašli povezanost s nekoliko markera na kromosomu 16q.

Suresh i suradnici (2006) istraživali su specifične vezane gene, uzimajući u obzir genetičku arhitekturu mucanja ovisnu o spolu. Ispitanici su bili potomci europskih obitelji u SAD-u, Švedskoj i Izraelu. Među ispitanicima su bile 252 osobe s perzistentnim mucanjem, 45 osoba koje su se oporavile od mucanja i 19 osoba koje su bile premlade za bilo kakvu klasifikaciju. Poveznicu kod osoba koje su ikada mucale, bilo da se radi o perzistentnom mucanju ili o oporavku od mucanja, pronašli su s kromosomom 9. Gledajući samo osobe s perzistentnim razvojnim mucanjem, poveznica je pronađena s kromosomom 15. Dalji rezultati ovog istraživanja pokazuju povezanost muških OKM s kromosomom 7, dok je kod ženskih OKM ista pronađena s kromosomom 21. Sekundarnim analizama potvrdili su povezanost s kromosomima 7 (što su dobili i Riaz i suradnici 2005., istražujući pakistanske obitelji), kao i s kromosomom 2, koji se navodi i u istraživanjima o etiologiji poremećaja iz autističnog spektra (PAS) (Suresh i sur., 2006).

Wittke-Thompson i suradnici (2007) željeli su smanjiti izazove svojstvene mapiranju složenih genetičkih crta, poput mucanja. Odlučili su se fokusirati na izoliranu populaciju (Huteriti u Sjevernoj Americi) od ukupno 1623 člana, iz 13 generacija podijeljenih u 4 podskupine, kako bi analizirali rodoslovlje kroz pojedinačne i potpune obitelji. Njihov način življenja uključuje gotovo iste okolinske uvjete, jedu istu hranu, rade na istoj farmi, školuju se svi u istoj školi, imaju zajedničke socijalne događaje i sl., to sve smanjuje varijabilnost okolinskih čimbenika koji mogu utjecati na razvoj mucanja. Najznačajniji rezultat veže se uz kromosom 13q21. Ista ova regija se u ranijim „linkage“ analizama povezivala s razvojnim jezičnim poremećajem, PAS-om i Tourettovim sindromom (Wittke-Thompson i sur., 2007). Ostale pronađene regije s nominalno značajnim dokazima uključuju kromosome 1, 3, 5 i 15.

Rezimirajući navedene podatke, mucanje se može povezati s kromosomima 18q, 7, 21, 9, 15q, 1, 12,

3q13.2-3q13.33, 2q, 14q, 16q, 13q21, 5, 10q21. Glavna limitacija „linkage“ istraživanja je lošija statistička značajnost za uzorke složenih poremećaja poput mucanja. Na jasnoću rezultata utječe varijabilnost u mnogim genima i često stotine kromosomskih regija koje zbog neravnoteže vezanosti gena dijele članovi iste obitelji, a nisu povezane s poremećajem koji se istražuje.

Identificiranje mutacija gena povezanih s mucanjem

Poznata su četiri gena povezana s pojavom mucanja: GNTPAB, GNTPG, NAGPA i AP4E1.

Prvi gen koji je istraživao kao jedan od mogućih kandidatskih gena je gen GNPTAB koji se nalazi na kromosomu 12. Riaz i suradnici (2005) su na 44 obitelji iz Pakistana povezali navedeni gen s razvojem mucanja. Njihovo istraživanje pokazuje kako je on u osnovi poremećaja u 9 % pakistanskih obitelji s višestrukim slučajevima perzistentnog mucanja. Raza i suradnici (2015a) su u populaciji Sjeverne Amerike, Pakistana, Kameruna i Brazila pronašli više varijanti gena GNPTAB (87 od 1013 slučajeva), GNPTG (45 od 1013 slučajeva) i NAGPA (32 od 1013 slučajeva). Ukupno 164 subjekta od 1013 (sveukupno 16 %) nosioci su 81 različite varijante ova tri navedena gena.

Varijante u sva tri navedena gena povezuju se s nesindromskim mucanjem u populaciji u SAD-u, Engleskoj, Pakistanu, Kamerunu i Brazilu (Kang i sur., 2010; Raza i sur., 2015a).

Dodatne potvrde u prilog tome kako varijante u genima GNPTAB, GNPTG i NAGPA čine ljude podložnima nesindromskom mucanju daju Kazemi i suradnici (2018), koji su koristili mapiranje homozigotnosti i Sangerovu metodu sekvenciranja na 25 iranskih obitelji, s najmanje dva nesindromska mucanja u prvom stupnju srodstva. Pronašli su 14 varijanti u tri navedena gena.

Specifične varijante pojavljuju se kod srodnih i nepovezanih OKM (Europa, Sjeverna Amerika, Azija, Pakistan...), ali gotovo nikad kod kontrolnih skupina (osoba koje ne mucaju) (Fang, 2010; Kang i sur., 2010; Kornfeld, 2012; Srikumari i sur., 2020).

Zaključuje se kako su samo tri varijante moguće potencijalno povezane s mucanjem: dvije varijante gena GNPTAB i jedna gena GNPTG. Bioinformatičkom analizom predviđeno je kako sve tri navedene varijante štetno utječu na funkcioniranje gena (Kazemi i sur., 2018; Srikumari i sur., 2020). Devi i suradnici (2021), svojim nedavnim istraživanjem, navode kako je samo jedna od spomenutih varijanti vjerojatno uzročna. Smatraju da je to varijanta c.3598G > A, koja dovodi do zamjene aminokiseline Glu s Lys na poziciji 1200 u genu GNPTG, s frekvencijom alela od 0,8 %. Istraživanje je provedeno na OKM u Indiji, uključujući 64 probandi s 12 specifičnih eksona otkrivenih Sangerovom metodom sekvenciranja.

Većina varijanti gena – osim navedenih – pronađene su u zahvaćenim i nezahvaćenim članovima obitelji, tj. skupinama koje mucaju i kontrolnim skupinama.

Kazemi i suradnici (2018) to objašnjavaju hipotetskom pretpostavkom, kako određene varijante imaju nedovršenu penetraciju i nositelji ne moraju uvijek pokazivati simptome poremećaja. Neke varijante uočene kod kontrolne grupe mogu tehnički biti uzrok mucanju, ali se ne manifestiraju zbog ranog oporavka nositelja.

Četvrti gen povezan s genezom mucanja je AP4E1. Raza i suradnici (2015b) pronašli su dvije rijetke varijante gena AP4E1 lociranog na kromosomu 15, c.1549G>A (p.Val517Ile) i c.2401G>A (p. Glu801Lys). Istraživanje je provedeno na nepovezanim osobama iz Pakistana, Kameruna i Sjeverne Amerike. Izvještavaju kako su te rijetke varijante AP4E1 u podlozi kod 34 od 936 nepovezanih slučajeva OKM (3,6 %). Kod osoba koje su nositelji tih varijanti gena AP4E1 prisutno je samo mucanje, bez drugih kliničkih poremećaja (Frigerio-Domingues i Drayna, 2017).

Identificiranje dodatnih gena

Varijante u navedenim genima i njihov doprinos slučajevima mucanja treba tumačiti s oprezom zbog više faktora. Prema Frigerio-Dominguesu i Drayni (2017), prvi faktor su vrste slučajeva mucanja koji su uključeni u istraživanja (svi slučajevi, prezistentni, oporavljeni), zatim veličina uzoraka, definicija vjerojatne uzročne varijante i podrijetlo uključene populacije. Navedeni autori osvrtno na istraživanje Raze i suradnika (2015a i b), zaključuju kako se 12 % nepovezanih slučajeva perzistentnog mucanja povezuje s varijantama navedenih gena. Poznato je kako se mucanje javlja u oko 1 % opće populacije, a taj se postotak kod djece povećava na 4-5 % opće populacije, što ukazuje na prirodni oporavak. Osobe koje su nekada mucale nisu uključene u istraživanja. Da jesu dio istraživanja, moguće je da bi doprinos ovih gena bio bliži 20 %.

Kraft (2010) kroz cjelogenomsku asocijacijsku studiju pokazuje potencijalne gene u razvoju perzistentnog mucanja (FADS2, PLXNA4, CTNNA3, ARNT2, EYA2, PCSK5, SLC24A3, FMN1, ADARB2, nekodirajuća RNA RNU6-259P), koji su uključeni u neurološke putove. Njegovo istraživanje ima slabu statističku značajnost, a provedeno je na 84 subjekta u dobi od 13 do 70 godina, porijeklom iz sjeverne Europe. Novije istraživanje potencijalno povezuje dvije varijante gena IFNAR1 (Leu552Pro i Lys428Gln) s razvojem mucanja. Varijante su pronađene u 3 od 10 nepovezanih kineskih obitelji s perzistentnim razvojnim mucanjem (Sun i sur., 2021). Posve je jasno kako je genomsko područje mucanja novo područje interesa istraživača, dodatni se geni tek počinju identificirati.

Utjecaj gena u intracelularnom trgovanju

Navedena glavna četiri gena imaju ulogu u intracelularnom trgovanju kroz enzime koje kodiraju. Intracelularno trgovanje uključuje premještanje proteina na prava mjesta, a prema jednom istraživanju deficit u

ovom procesu može dovesti do perzistentnog mucanja („NIH Researchers“, 2015).

GNPTG i GNPTAB zajedno kodiraju enzim GNPT (Kazemi i sur., 2018). GNPT proizvodi protein koji pospješuje raspadanje i recikliranje staničnih komponenti unutar lizosoma. Poznato je kako lizosomi imaju funkciju poput malih staničnih želuca: probavljaju otpad i suvišne dijelove stanica (Lam Science, 2021). NAGPA kodira enzime odgovorne za posljednji korak u dovođenju proteina u lizosome (Kornfeld, 2012). AP4E1 gen kodira podjedinicu AP-4 („*The Adaptor Protein 4 complex*“), dio stanične membrane koja kontrolira promet u endomembranskom sustavu (promet proteina i metaboličkih funkcija u stanici). Premda hipotetski, AP-4 protein ima važnu ulogu u razvoju i funkcioniranju mozga (Abou Jamra i sur., 2011). Rezultati istraživanja Raza i suradnika (2015b) podržavaju izravnu povezanost između AP-4 kompleksa i NAGPA-e.

Deficiti procesa intracelularnog trgovanja prepoznani su kao uzrok neuroloških poremećaja poput: Charcot-Marie-Toothove bolesti, tipa C Niemann-Pickove bolesti, Perryjeva sindroma, Alzheimerove i Parkinsonove bolesti (Raza i sur., 2015a). Također, uzrokuju lizosomske bolesti nakupljanja, poput mukolipidoze tipa II i III (MLII i MLIII). Radi se o rijetkim neurodegenerativnim lizosomskim bolestima nakupljanja (Kang i sur., 2010; Raza i sur., 2016; Stamurai, 2020). Iako osobe s MLII i MLIII dominantno imaju koštane, kardiološke i očne poremećaje, učestalo imaju i deficite u govoru, posebice ekspresivnom (Kang i sur., 2010). Mutacije koje uzrokuju mukolipidoze imaju samo jednu kopiju izmijenjenog gena (Stamurai, 2020), tj. nasljeđuju se obje kopije. Nasljeđivanjem samo jedne „oštećene“ kopije jednog od tri gena (GNPTAB, GNPTG, NAGPA), osoba je urednog fiziološkog i psihološkog zdravlja i bez naznaka mukolipidoze. Jedini efekt mutacije je mucanje, zbog netočne proizvodnje proteina koji je kodiran mutiranim genom.

Potpuna uloga enzima u govoru još nije posve jasna. Kornfeld (2012) navodi kako u našem mozgu postoje bilijuni neurona i ne zna se točno koji od njih su uključeni u proces govora. Prvenstveno je nejasan mehanizam govorenja i koji neuroni su uključeni, tako da je teško odgonetnuti zašto oštećenje u lizosomalnom putu može utjecati na razvoj mucanja. Izgleda da su neka perzistentna mucanja uzrokovana varijantama gena koji ne upravljaju govorom, već metaboličkim putovima povezanim s recikliranjem starih dijelova stanice (Kornfeld, 2012).

Promjene moždanih struktura

Višestruke genske mutacije pridonose promjenama u funkciji i strukturi mozga (Stamurai, 2020). Nijedan od navedenih gena i njihovih varijanti koje utječu na intracelularno trgovanje, nemaju nikakvu očitu vezu s moždanim govornim područjem.

Barnes i suradnici (2016) pokušali su razjasniti poveznicu između lizosomalnog puta i mucanja,

postavljajući pitanje hoće li varijante gena povezane s mucanjem kod ljudi uzrokovati glasovne ili druge abnormalnosti kod miševa. Homozigotna varijanta Glu1179Lys, koja je homologna humanoj Glu1200Lys varijanti u genu GNPTAB, istraživana je s ciljem promatranja promjena u vokalizaciji miševa. Snimke ultrazvučne vokalizacije mladunaca miševa pokazuju zanimljiv uzorak stanki i prekida koji su slični simptomima mucanja kod ljudi, te su emitirali manje vokalizacije po jedinici vremena. Ostala neverbalna ponašanja su bila ista kao i kod drugih (kontrolnih) miševa. Autori zaključuju kako intracelularno trgovanje i promjene u vokalizaciji imaju direktnu poveznicu, koju je svakako potrebno dodatno istražiti.

Han i suradnici (2019) nastavljaju navedeno istraživanje i pronalaze rezultate koji sugeriraju da su deficiti u vokalizaciji miševa s varijantom Ser321Gly GNPTAB gena, rezultat smanjenog broja stanica astrocita, posebice u korpusu kalozumu. Manji broj astrocita usporava komunikaciju između moždanih hemisfera, s malim vremenskim odmakom koji se može primijetiti samo u finoj motoričkoj izvedbi (što je karakteristika govorne produkcije). Han i suradnici (2019) navode kako su abnormalnosti u povezanosti korpusa kalozuma, također, prisutne kod djece s perzistentnim mucanjem, u odnosu na onu djecu s prirodnim oporavkom od mucanja. Promjene u GNPTAB genu povezane su s progresivno degenerativnim djelovanjem na živčani sustav, a deficit astrocita se, prema istraživačima, pogoršava s godinama. Ovo se može uzeti kao još jedan razlog zašto djeca mogu naglo početi mucati, nakon razdoblja tečnog govora ili onog s uobičajenom netečnosti. Sve navedeno potvrđuje hipotezu o vezi između deficita interhemisferne komunikacije i razvoja mucanja.

Per Alm (2021) u svom preglednom radu o motoričkom učenju i izvođenju sekvencioniranih pokreta, navodi kako su mutacije u ljudskom genu FOXP2 („*gen za govor*“) bile nužne kako bi se razvila sposobnost brže (time i efikasnije) artikulacije. Sposobnost učenja i izvođenja tih brzih sekvencioniranih pokreta uključuje promjene u bazalnim ganglijima i dopaminskom sustavu, što je ključni faktor. Osobe sa samo jednim funkcionalnim navedenim genom mogu imati teškoća u govorno-motoričkoj izvedbi, pogotovo u izvođenju i/ili imitiranju višesložne sekvence. Autor zaključuje kako u odnosu na mucanje, dinamika dopaminske signalizacije predstavlja glavnu osnovu za situacijsku varijabilnost mucanja.

Zahvaljujući neuroplastičnosti mozga, u potpunosti se ne zna jesu li navedene razlike između OKM i onih osoba koje ne mucaju, uzrok ili rezultat mucanja. Nedavno istraživanje australskog tima (*Australian Research Centre*) daje zanimljive preliminarne rezultate na tu temu. Istraživanje je provedeno magnetskom rezonancom (MR) na 18 djece, starosne dobi od 8 do 18 tjedana. Šestero djece ima genetičku podlogu kao rizik od razvoja mucanja. MR pokazuje smanjeni integritet bijele tvari u korpusu kalozumu kod novorođenčadi koja su rizična u odnosu na kontrolnu skupinu (Packman i sur., 2022). Lijevi lučni snop (*fasciculus arcuatus*) nije imao nikakve abnormalnosti kod novorođenčadi s rizičnim faktorom, što ne iznenađuje budući da se to područje razvija s razvojem govora (Packman i sur., 2022).

Ovo istraživanje sugerira kako je uzrok mucanju organski i prisutan pri rođenju, što ima opsežne implikacije za terapiju mucanja - ali i uklanjanju stigme i marginalizacije koje ga prate. To je prvo istraživanje kroz skeniranje dječjeg mozga prije razvoja mucanja, a rezultati svakako trebaju dalja istraživanja.

ZAKLJUČAK

Mucanje je složeni neurorazvojni poremećaj uzrokovan interakcijom genetičkih i okolinskih faktora u većini slučajeva, što pokazuju i istraživanja blizanaca s različitim potvrđenom nasljednošću. Iako je uočena obiteljska agregacija, genetičke epidemiološke studije dale su nedosljedne dokaze o načinu nasljeđivanja, s različitim izvješćima o dominantnom, recesivnom i spolno modificiranom nasljeđivanju. Genetičke studije zahtjevne su zbog interakcije gen-gen ili gen-okolina, genetske heterogenosti, rodne pristranosti, nepotpune penetracije i fenokopije (Oliveria i sur., 2012). Analizom vezanih gena pronalaze se kromosomi s najznačajnijim genima GNPTAB (kromosom 12), GNPTG i NAGPA (kromosom 16) te AP4E1 (kromosom 15). Ova otkrića pružaju nove mogućnosti u razumijevanju biološke osnove mucanja, u kojoj svi identificirani geni ukazuju na nedostatke unutarstanične trgovine. Iz genetičke perspektive, poznato je da dosad identificirani geni igraju ulogu u ciljanju enzima prema lizosomima koji su ključni za biogenezu i održavanje mijelinskih ovojnica (Devi i sur., 2021). Neurološka perspektiva otkriva hiperaktivnost dopamina i abnormalnosti bijele tvari koje se uočavaju u mucanju, ukazujući na moguću neurokemijsku podlogu s još nejasnim mehanizmom djelovanja (Devi i sur., 2021). Identificiranje veza između dopamina, neuronskih krugova i prometa proteina tek počinje. Obećavajući početak je istraživanje australskih istraživača, koji su na malom broju ispitanika (odmah nakon njihova rođenja) otkrili smanjeni integritet bijele tvari u korpusu kalozumu kao potencijalni uzrok mucanja. Zanimljivo će biti vidjeti rezultate istraživanja longitudinalnog tipa, jesu li ti ispitanici kasnije razvili mucanje i pod kojim dodatnim uvjetima.

LITERATURA

Abou Jamra R., Phillippe O., Raas-Rothschild A., Eck S.H., Graf E., Buchert R., Borck G., Ekici, A., Brockschmidt F.F., Nothen M. M., Munnich A., Strom T. M., Reis A., Colleaux L., (2011). Adaptor protein Complex 4 Deficiency Causes Sever Autosomal-Recessive Intellectual Disability, Progressive Spastic Paraplegia, Shy Character, and Short Stature. *Am J Hum Genet.* 88 (6):788-95.

Ambrose, N. G., Cox, N. J., & Yairi, E. (1997). The genetic basis of persistence and recovery in stuttering. *Journal of Speech, Language, and Hearing Research*, 40(3), 567-580.

Ambrose N. G., Yairi, E., & Cox, N. (1993). Genetic aspects of early childhood stuttering. *Journal of Speech,*

Language, and Hearing Research, 36(4), 701-706.

Barnes T.D., Wozniak D.F., Gutierrez J., Han T.U., Drayna D., Holy T.E. A mutation associated with stuttering alters mouse pup ultrasonic vocalizations. *Curr Biol.* 2016;26 (8):1009-1018.

Craig A., Hancock K., Tran Y., Craig M., Peters K., (2002). Epidemiology of stuttering in the community across the entire life span. *J Speech Lang Hear Res.* 45(6):1097-105.

Devi G. N., Thalamuthu A., Valarmathi S., Karthikeyan N. P., Srisailapath C. R. (2018). Genetic epidemiology of stuttering among school children in the state of Tamil Nadu, India. *Journal of Fluency Disorders* 58, 11-21. Retrieved November 25, 2018.

Devi N.G, Chandru J., J effrey J.M., Mathuravalli K., C. R. Srikumari Srisailapathy (2021). Evaluation of recurrent GNPTAB, GNPTG, and NAGPA variants associated with stuttering. *Advanced genetics. Volume 2.* <https://doi.org/10.1002/ggn2.10043>

Fang, J. (2010). Genetic basis for stuttering identified. *Nature*, 1. <https://doi.org/10.1038/news.2010.61>

Felsenfeld, S., Kirk, K.M., Zhu, G., Statham, D.J., Neale, M.C., & Martine, N. G. (2000). A study of the genetic and environmental etiology of stuttering in a selected twin sample. *Behavior Genetics*, 30(5), 356-366.

Felsenfeld S. (2002). Finding susceptibility genes for developmental disorders of speech: the long and winding road. *Journal of Communication Disorders.* 35:329-345.

Frigerio-Domingues C. E. , Olivera, C. M. C., Oliveira, B. V., Juste, F. S., Andrade, C. R. F., Giacheti, C. M., ... & Drayna, D. (2014). A genetic linkage study in Brazil identifies a new locus for persistent developmental stuttering on chromosome. *Genetics and Molecular Research*, 10, 2094-2101.

Frigerio-Domingues, C. E. & Drayna, D. (2017). Genetic contributions to stuttering: the current evidence. *Molecular Genetics and Genomic Medicine*, 5(2), 95-102.

Frigerio-Domingues, C.E., Gkalitsiou Z., Zezinka A., Sainza E., Gutierrez J., Byrd C., Webster R., Drayna D., (2019). Genetic factors and therapy outcomes in persistent developmental stuttering. *Journal of Communication Disorders* 80 (2019) 11-17

Han, T.-U., Root, J., Reyes, L. D., Huchinson, E. B., Hoffmann, J., Lee, W.-S., Barnes, T. D., & Drayna, D. (2019). Human GNPTAB stuttering mutations engineered into mice cause vocalization deficits and astrocyte pathology in the corpus callosum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(35), 17515-17524. <https://doi.org/10.1073/pnas.1901480116>

Kang, C., Riazuddin, S., Mundorff, J., Krasnewich, D., Friedman, P., Mullikin, J.C., and Drayna, D. (2010). Mutations in the lysosomal enzyme-targeting pathway and persistent stuttering. *N.Engl.Med.* 362, 677-685.

Kazemi, N., Estiar, M. A., Fazilaty, H., & Sakhinia, E. (2018). Variants in GNPTAB, GNPTG and NAGPA genes are associated with stutterers. *Gene*, 647, 93-100. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.12.054>

- Kidd, K. K., Heimbuch, R. C., & Records, M. A. (1981). Vertical transmission of susceptibility to stuttering with sex-modified expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(1), 606-610.
- Kidd, K. K., & Records, M. A. (1978). The possible causes of the sex ratio in stuttering and its implications. *Journal of Fluency Disorders*, 3(1), 13-23.
- Kornfeld, S.A. (2012). Surprising Pathway Implicated in Stuttering, published on Stuttering Foundation: A Nonprofit Organization Helping Those Who Stutter (<https://www.stutteringhelp.org>)
- Kraft, S. J. (2010). Genome-wide association study of persistent developmental stuttering (Doctoral dissertation, University of Illinois at Urbana-Champaign).
- Kraft S.J., Yairi E. (2011). Genetic bases of stuttering: the state of the art. *Folia Phoniatica Et Logopaedica*, 64, 34-47.
- National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. 2015. (update 2020, 24 november). NAGPA N-acetylglucosamine-1-phosphodiester alpha-N-acetylglucosaminidase [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. ncbi - National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/51172>
- Oliveira B.V.D., Domingues C.E.F., Juste F.S., Andrade C.R.F.D., Moretti-Ferreira D. Familial persistent developmental stuttering: genetic perspectives. *Rev da Soc Bras Fonoaudiol*. 2012;17(4):489-494.
- Packman A., Onslow M., Lagopoulos J., Lack Z.Y., Lowe R., Jones M., O'Brian S., Sommer M.(2022). White matter connectivity in neonates at risk of stuttering: Preliminary data. *Science Direct*. Volume 781.
- Per Alm (2021). The Dopamine System and Automatization of Movement Sequences: A Review With Relevance for Speech and Stuttering. *Front. Hum. Neurosci*. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.661880>
- Rautakoski, P., Hannus T., Simberg S., Sandnabba N. K., and Santtila P. 2012. Genetic and environmental effects on stuttering: a twin study from Finland. *J. Fluency Disord*. 37:202–210.
- Raza M. H., Riazuddin S., & Drayna D. (2010). Identification of an autosomal recessive stuttering locus on chromosome 3q13. 2–3q13. 33. *Human genetics*, 128(4), 461-463.
- Raza M. H., Amjad, R., Riazuddin, S., & Drayna, D. (2012). Studies in a consanguineous family reveal a novel locus for stuttering on chromosome 16q. *Human genetics*, 131(2), 311-313.
- Raza M. H., Gertz E. M., Mundorff, J., Lukon J., Kuster J., Schäffer A. A., & Drayna, D. (2013). Linkage analysis of a large African family segregating stuttering suggests polygenic inheritance. *Human genetics*, 132(4), 385-396.
- Raza M.H., Domingues C.E., Webster R., Sainz E., Paris E., Rahn R., Gutierrez J., Chow H.M., Mundorff J., Kang C.S. (2015a). Mucopolipidosis types II and III and non-syndromic stuttering are associated with different variants in the same genes. *European Journal of Human Genetics*, 24, 529-534.
- Raza M.H., Mattera R., Morell R., Sainz E., Rahn Rachel, Gutierrez J., Paris E., Root J., Solomon B., Brewer C., Basra M.A.R., Khan S., Riazuddin S., Braun A., Bonifacio J.S., and Drayna D. (2015b). Association between rare variants in AP4E1, a component of intracellular trafficking, and persistent stuttering. *American Journal of Human Genetics*, 97, 715-725.
- Raza, M.H., Domingues, C.E., Webster, R., Sainz, E., Paris, E., Rahn, R., Gutierrez, J., Chow, H.M., Mundorff, J., Kang, C.S., et al. (2016). Mucopolipidosis types II and III and non-syndromic stuttering are associated with different variants in the same genes. *European Journal of Human Genetics*, 24, 529-534.
- Riaz N., Steinberg S., Ahmad J., Pluzhnikov A., Riazuddin S., Cox N. J., & Drayna D. (2005). Genome wide significant linkage to stuttering on chromosome 12. *American Journal of Human Genetics*, 76(4), 647-651
- Scott L. (2006). A look at genetic and neurological correlates of stuttering. *The Stuttering Foundation newsletter*.
- Shugart Y. Y., Mundorff, J., Kilshaw J., Doheny K., Doan B., Wanyee J., ... & Drayna, D. (2004). Results of a genome-wide linkage scan for stuttering. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 124(2), 133-135.
- Srikumari C.R., Nandhini G., Jeffrey J.M., Mathuravalli K.(2020). Recurrence of reported GNPTAB, GNPTG and NAGPA gene variations associated with stuttering - an evaluation., 1–18. <https://doi.org/10.22541/au.160218237.79315446/v1>
- Stamurai T. (2020). Cellular Causes of Stuttering in Adults and Children. *Stamurai Blog – Stuttering Information, Advice & News*. <https://stamurai.com/blog/cellular-causes-of-stuttering-in-adults-and-children/>
- Sun Y., Gao Y., Zhou Y., Zhou Y., Zhan Y., Wang D., Tan L.H., (2021). IFNAR1 gene mutation may contribute to developmental stuttering in the Chinese population. *Sun et al. Hereditas* 158:46 Published online 2021 Nov 18. doi: 10.1186/s41065-021-00211-y
- Suresh, R., Ambrose, N., Roe, C., Pluzhnikov, A., Wittke-Thompson, J. K., Ng, M. C. Y., ... & Ezrati, R. (2006). New complexities in the genetics of stuttering: significant sex-specific linkage signals. *American Journal of Human Genetics*, 78(4), 554-563.
- Wittke-Thompson, J. K., Ambrose N., Yairi E., Roe C., Cook E. H., Ober C., & Cox N. J. (2007). Genetic studies of stuttering in a founder population. *Journal of Fluency Disorders*, 32(1), 33-50
- Lam Science (None 2021), <<https://hr.lamscience.com/lysosome-definition>>. Pristupljeno 30.11.2021.

Posebna zahvala:

Zahvaljujem se svima koji su kroz lektoriranje i recenziranje pripomogli svojim korekcijama, savjetima i konstruktivnim kritikama, a posebno mojim kolegicama s ECSF-a.