

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

КАТЕДРА ПО НЕВРОЛОГИЯ

Научна специалност

030119 Неврология

Доц. д-р Теодора Кънчева Чамова, дм

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧНО ПРОУЧВАНЕ НА НАСЛЕДСТВЕНИТЕ
ЦЕРЕБЕЛАРНИ ДЕГЕНЕРАЦИИ В БЪЛГАРИЯ**

Автореферат

**На дисертация за присъждане на научната степен
“Доктор на науките”**

София, 2023 година

Дисертационният труд съдържа 268 стандартни машинописни страници и е онагледен с 54 фигури и 32 таблици. Библиографската справка съдържа 450 литературни източника.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита от учебно-научния съвет към Катедра по Неврология, Медицински университет – София, на заседание, проведено на 22.11.2022г.

Научно жури:

Вътрешни членове:

Проф. Д-р Ивайло Търнев, дмн

Проф. Албена Годорова, дбн

Проф. Д-р Юлия Петрова, дмн

Външни членове:

Проф. Д-р Пенка Атанасова, дмн

Проф. Д-р Красимир Генов, дмн

Проф. Д-р Параскева Стаменова, дмн

Проф. Д-р Стефка Янчева, дмн

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 13.04.2023 г. от 13:30 часа в аудиторията на Клиниката по Нервни болести, УМБАЛ „Александровска“.

Материалите по защитата на дисертационния труд са публикувани на интернет страницата на Медицински Университет – София

Съдържание

Използвани съкращения.....	5
Въведение.....	6
1. Цел и задачи.....	6
1.1 Цели.....	6
1.2 Задачи.....	6
2. Клиничен контингент и методи.....	7
2.1. Клиничен контингент.....	7
2.2. Клинично фенотипизиране.....	7
2.3. Генетични изследвания.....	9
2.4. Статистически анализ.....	14
3. Резултати.....	14
3.1. Автозомно-доминантни атаксии.....	14
3.1.1. СЦА 1.....	14
3.1.2. СЦА 2.....	17
3.1.3. СЦА 6.....	20
3.1.4. СЦА 7.....	21
3.1.5. СЦА 14.....	22
3.2. Автозомно-рецесивни атаксии.....	25
3.2.1. Болест на Friedreich.....	25
3.2.2. Атаксия-телангиектазия.....	29
3.2.3. Атаксия окуломоторна апраксия.....	38
3.2.4. Церебротендинозна ксантоматоза.....	40
3.2.5. Атаксия с дефицит на витамин Е.....	41
3.2.6. Desequilibrium syndrome-церебеларна атаксия, умствено изоставане с или без походка на четири крака 1 (DES, CAMRQ1).....	43
3.2.7. ARCA 1.....	48
3.2.8. Спастична атаксия на Charlevoix–Saguenay (ARSACS).....	49
3.2.9. ARCA3.....	54
3.2.10. SCAR13.....	59
3.2.11. Болест на Niemann Pick B.....	69
3.2.12. Болест на Niemann Pick C.....	73

3.2.13. Трemor-атаксия с централна хипомиелинизация (Хипомиелинизираща левкодистрофия 7- HLD7).....	83
3.2.14. Синдром на Boucher-Neuhäuser.....	90
4. Изводи.....	94
5. Приноси.....	95
6. Публикации, свързани с дисертационния труд.....	96
7. Научни съобщения, свързани с дисертационния труд.....	98
8. Summary.....	101

Използвани съкращения

АК- Аминокиселини
АТФ- Аденозин трифосфат
ГТКП- Генерализирани тонично-клонични пристъпи
ДНК- Дезоксирибонуклеинови киселини
ДЦП- Детска церебрална парализа
ЕМГ – Електромиография
ЕНГ- Електроневрография
ЕРГ- Електроретинография
ЗЕП- Зрителни евокирани потенциали
КТ- Компютърна томография
ЛАС- Латерална амиотрофична склероза
МЕП- Моторни евокирани потенциали
МС- Множествена склероза
МРТ- Магнитнорезонансна томография
МСА- Мултисистемна атрофия
М.с.СЕП- Мозъчностволови слухови евокирани потенциали
НМА- Наследствените малкомозъчни атаксии
ННР- Невро-психично развитие
нкРНК- Некодиращи Рибонуклеинови киселини
ПЕТ- Позитронно-емисионна томография
РНК- Рибонуклеинови киселини
СР- Сухожилни рефлексии
ССЕП- Соматосензорни евокирани потенциали
СЦА- Спиноцеребеларна атаксия
ОСТ- Оптично-кохерентна томография
СТХ- Церебротендинозна ксантоматоза
ТЗБС- Тазобедрена става
тРНК- Транспортни рибонуклеинови киселини
ФИ- Фракция на изтласкване
АФР- алфа фетопротейн
ДОРА- dopamine
DRPLA- Дентато-рубро-палидолуизилна атрофия
HDL- High density lipoproteins
MJD- Machado Joseph disease
НРА- Болест на Niemann Pick A
НРВ- Болест на Niemann Pick B
НРС- Болест на Niemann Pick C
NGS- Next generation sequencing
WES- Whole exome sequencing
WGS- Whole genome sequencing

ВЪВЕДЕНИЕ

Наследствените церебеларни дегенерации представляват голяма група хетерогенни в клинично и генетично отношение заболявания (Manto M и съавт. 2020). При някои форми е налице изолиран панцеребеларен синдром, докато при други се добавят и екстрацеребеларни прояви, като пигментна дегенерация на ретината, екстрапирамидни двигателни нарушения, пирамидни прояви, корово засягане (епилептични пристъпи, когнитивни и поведенчески нарушения), периферна невропатия и засягане на други органи и системи.

През последните 20 г. с бързото развитие на генетиката и обогатяването на молекулярно-генетичните методи на диагностика значително се разшири и познанието за наследствените малкомозъчни атаксии (НМА), за обуславящите ги генни дефекти и подлежащите патогенетични механизми, които биха били и основа за бъдещи терапевтични стратегии.

От клинична гледна точка се въведоха нови класификации. Предвид припокриващите се фенотипи на НМА, обусловени от мутации в различни гени и широкият фенотипен спектър, дължащ се на дефекти в един и същи ген, се оказва, че клиничните и параклиничните изследвания не са достатъчни за изясняване на диагнозата.

Основна цел на настоящото изследване е да се проучи кои НМА се срещат в България, както и да се определят генотип-фенотипните корелации при тези форми. Актуалността на изследването е обусловена от липсата на съвременни проучвания за епидемиологията и генотип-фенотипните корелации на НМА в България, съобразени с напредъка на молекулярно-генетичната диагностика.

1. Цел и задачи

1.1 Цели на проучването:

1. Да се оцени разпространението на различните форми на наследствени церебеларни дегенерации в България
2. Да се проучат генотип-фенотипните корелации при диагностицираните форми на наследствени церебеларни дегенерации в България

1.2 Задачи:

За постигането на гореописаните цели са поставени следните задачи:

1. Събиране на кохорта от пациенти с церебеларни атаксии. Тази кохорта се разделя на две части: спорадични случаи и фамилни случаи
2. Генеалогично проучване на засегнати фамилии с малкомозъчни атаксии и класифицирането им в зависимост от налина на унаследяване на:
 - Автозомно-доминантни
 - Автозомно-рецесивни

- X-свързани
 - Митохондриални
2. Провеждане на ДНК-анализ и определяне на генния дефект (конкретен ген и тип мутация).
 3. Определяне на разпространението на различните форми в рамките на страната и сред различните етнически групи.
 4. Създаване на регистър на пациенти с НМА
 5. Детайлно клинично фенотипизиране с помощта на следните методи:
 - Клинични, вкл. специфични скали за атаксия
 - Неврофизиологични
 - Невропсихологични (специфични батерии от невропсихологични тестове, съобразени с очакваните когнитивни нарушения)
 - Невроизобразяващи методи
 6. Насочване на пациентите с когнитивни, поведенчески и психични нарушения за подходяща терапия и неврореабилитация.
 7. Проследяване на ефекта от лечение при лечимите наследствени заболявания с малкомозъчна атаксия
 8. Насочване на пациентите и техните близки към генетична консултация и пренатална диагностика, с цел профилактика на нови случаи на наследствени целебеларни дегенерации.

2. Клиничен контингент и методи:

2.1. Изследвани общо 162 пациента, принадлежащи към 95 родословия. Те се класифицират по следния начин:

- 113 са случаи, при които е налице фамилна обремененост, съответстваща на:
 - АД или псевдоминантен тип на унаследяване при 63.
 - АР тип на унаследяване при 50.
- 49 са спорадични случаи.

2.2. Клинично фенотипизиране:

Всички пациенти бяха подложени на пълно клинично охарактеризиране, включващо следните изследвания:

- Анамнеза, вкл. фамилна с провеждане на генеалогичен анализ
- Неврологичен статус, вкл. скали за оценка тежестта на атаксията SARA (Schmitz-Hubsch T и съавт. 2006), и спастицитет SPRS (Schule R и съавт. 2006).
- Соматичен статус
- Невроофталмологично изследване (изследване на зрителна острота, периметрия, окуломоторика, очни дъна и при необходимост OCT)
- Неврофизиологични изследвания:
 - Електроневрография с изследване на n. peroneus, n. tibialis, n. medianus, n. ulnaris, n. suralis, n. peroneus superficialis

- Електромиография
ЕНГ и ЕМГ при пациентите са извършени на преносим електромиограф Dantec–Keypoint (Natus, Copenhagen, Denmark).
- Sudoscan
- Евокирани потенциали- ЗЕП, м.с.СЕП
- Електроенцефалография
- Стандартни кръвни лабораторни изследвания, вкл. алфа-фетопротеин и лизосфинголипиди
- При пациенти с мутации в *POLR3A*- гена в допълнение са изследвани базални нива на хормоните от гонадната ос и нива след стимулация с gonadotropin releasing хормон и clomiphene citrate за оценка на наличието или липсата на хипогонадотропен хипогонадизъм.
- При пациентите с болест на Niemann Pick В и С е проведена и ехография на коремни органи за оценка на степента на органомегалия
- Невропсихологично изследване- представени на таблица 1.
При пациенти с нисък образователен ценз от ромския етнос получените резултати са сравнение със съответстващи по пол, възраст и образователен ценз здрави контроли от същата общност.

Таблица 1. Използвани невропсихологични тестове при пациентите с НМА.

Изследвани когнитивни функции	Невропсихологичен тест
Изследване на общото когнитивно функциониране и интелекта	Mini-Mental State Examination (MMSE)
	Wechsler intelligence scale for children
	Raven progressive matrices
Памет ❖ Вербална-слухова	Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT)
	Тест с 10 думи
	Digit span- прав ред
Екзекутивни функции и внимание	Trial making test (TMT)
	Stroop test
	Digit span - обратен ред
	Фонемна вербална флуентност
Езикови функции	Семантична вербална флуентност

- При пациенти с мутации в *POLR3A*- гена в допълнение е проведена и ортопантомография за оценка наличието или липсата на хиподонтния
- Магнитно-резонансна томография на главен и гръбначен мозък- 3 Tesla MRI unit (Siemens Verio).

2.3. Генетични изследвания:

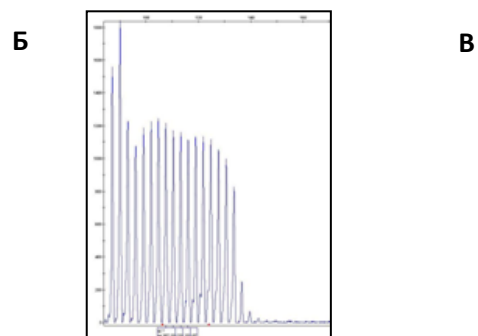
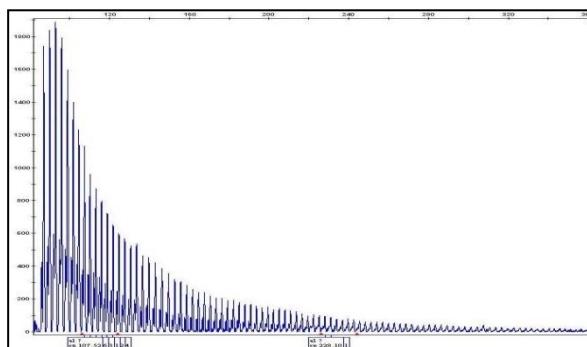
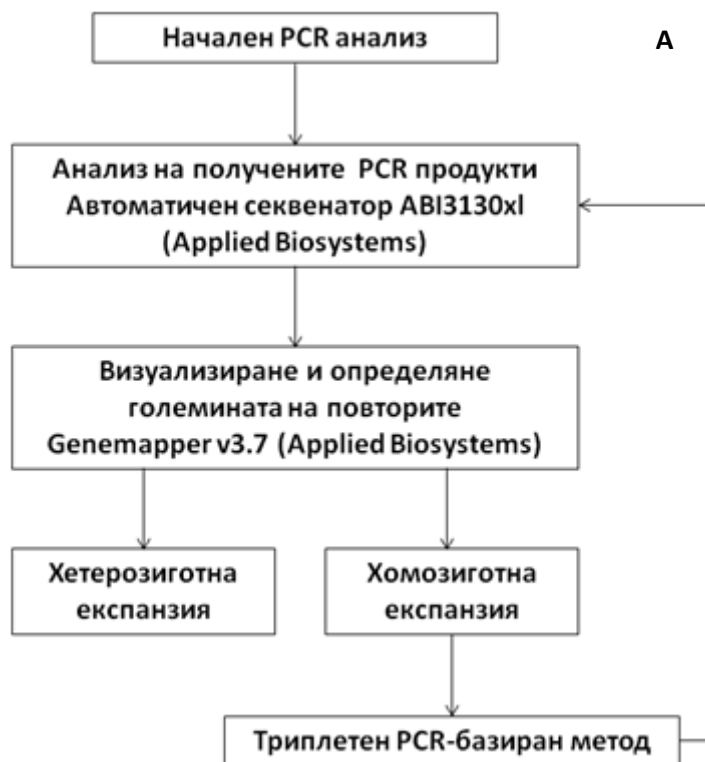
От пациентите и техни незасегнати роднини беше взета кръв, от която беше изолирана високомолекулна ДНК.

Генетичните изследвания на тези пациенти са извършени в Национална генетична лаборатория, МУ-София, Медико-диагностична лаборатория „Геника“-София, Molecular Genetics Laboratory, Western Australian Institut efor Medical Research and Centre for Medical Research, The University of Western Australia, Пърт, Австралия и Molecular Neurogenomics Group, VIB Department of Molecular Genetics, Антверпен, Белгия.

2.3.1. Скрининг за динамични повтори в гени свързани с НМА.

Преобладаващият тип мутации водещи до АД форми на НМА представляват експанзии на тринуклеотидни повтори, разположени в кодиращата част на гените при СЦА тип 1, 2, 3, 6, 7, 17. Друга категория нуклеотидни експанзии са разположени извън протеин-кодиращата последователност на съответните гени, характерно за СЦА 8, 10 и 12. Най-честите дефекти водещи до АР-НМА представляват GAA експанзии в първия интрон на *FHN* гена при атаксия на Фридрайх (FRDA) (Gasser T и съавт. 2010).

С помощта на представения на фигура 1 системен ход за скрининг на динамични повтори, бяха изследвани 45 нови пациента с данни за възможно АД унаследяване или спорадични случаи, при които липсваше предварителен генетичен анализ. При всички тях бе проведен първичен PCR-анализ на тринуклеотидни повтори в локуси СЦА1, 2, 3, 6, 7, 8, 10, 12, 17. Пациентите, при които беше отчетено хомозиготно състояние за някой от изследваните локуси, бяха включени в скрининг за изключване на експанзия в този локус чрез TP-PCR анализ.



Фигура 1. Анализ на динамични нуклеотидни повтори в известни гени, свързани със СЦА. Системен ход на анализ (А). Електрофореграма на триплетния PCR при пациент с експанзия (А) и при нормална контрола (Б). X-остта показва размера на фрагментите в bp, докато Y-оста показва интензитетите на флуоресценция.

Оценката за патогенността на експанзиите при всеки един пациент бе направена съобразно броя на установените повтори в съответния локус при различните СЦА форми, по литературни данни (таблица 2) (Gasser T и съавт, 2010).

Таблица 2. Характеристика на динамичните нуклеотидни повтори при на най-честите форми на спиноцеребеларна атаксия.

Заболяване	Ген/ протеин	Вид повтор	Размер на повтора при:	
			Нормален алел	Експанзия
СЦА 1	<i>ATXN1</i> / атаксин-1	CAG	27–36	39–82
СЦА 2	<i>ATXN2</i> / атаксин-2	CAG	15–32	33–64
СЦА 3	<i>ATXN3</i> / атаксин-3	CAG	12–43	52–86
СЦА 6	<i>CACNA1</i> / калциев канал	CAG	8–14	20–33
СЦА 7	<i>ATXN7</i> / атаксин-7	CAG	7–35	38–200
СЦА 8	<i>KLHL-1</i> /Kelch-подобен протеин 1	CAG/CTG		107–128
СЦА 10	<i>ATXN10</i> / атаксин-10	ATTCT		1000–4000
СЦА 12	<i>PPP2R2B</i> / фосфатаза	CAG		66–78
СЦА 17	<i>TBP</i> /TATA свързващ протеин	CAG	29–42	50–63
FRDA	<i>FXN</i> /фратаксин	GAA		90-1300

2.3.2. Екзомно секвениране

При пациентите, при които не бяха установени експанзии в изследваните локуси за СЦА и атаксия на Friedreich, анализът продължи с екзомното секвениране с цел търсене на точкови мутации, малки делеции/инсерции като причина за заболяването. Във връзка с това, бяха извършени следните дейности:

- Анализ на данните от пълното екзомно секвениране (Whole Genome Sequencing, WES), получени през първия етап
- Екзомно секвениране в новорегистрираните семейства, при които бяха отхвърлени експанзии на динамични повтори в изследваните локуси за СЦА и болест на Фридрайх.
- Анализ на данните от екзомното секвениране в новорегистрираните семейства.

Част от пациентите, при които по клинични данни се очакваше откриването на мутации във вече известни гени, свързани с различни форми на НМА, бяха насочени за екзомно секвениране на панел от 4813 гена свързани с известни заболявания.

Пълно екзомно секвениране за търсене на нови и редки форми на НМА.

С цел откриване на нови и редки форми на НМА, в настоящото изследване беше използван методът на пълно екзомно секвениране (WES), който се състои във високопродуктивно паралелно секвениране на всички белтък-кодиращи участъци в генома (екзома) на даден индивид. Екзомното секвениране на BGI Tech Solutions включва изготвяне на ДНК библиотека и таргетно обогатяване на човешки екзом с SureSelect Human All Exon v5 кит (Agilent), паралелно секвениране на изготвените библиотеки с помощта на Illumina HiSeq 2000 платформа и първичен биоинформатичен анализ на данните.

2.3.2.1. Анализ на данните от WES, получени при първичния биоинформатичен анализ.

Получените данни бяха обработени с помощта на програмните пакети GenomeComb или VarSeq® като анализът включваше:

- Напасване (alignment) и картиране (mapping) на прочитите към референтния човешки геном версия hg19.
- Премахване на дублицираните прочити, повторно напасване около инсерции/делеции (indel realignment) и рекалибриране качеството на базите (base quality score recalibration, BQSR)
- Идентифициране на варианти спрямо референтния геном
- Анотиране спрямо публичните бази данни за популационна честота, позиция в съответния белтък и иРНК, предикциите за патогенност, еволюционна консервативност и др.
- Приоритизиране на идентифицираните варианти чрез филтруване първоначално по генен панели, и в последствие в останалите гени в екзома в зависимост от начина на унаследяване на заболяването в семейството.

При пациентите, принадлежащи към изолатни популации или общности с традиционни кръвнородствени бракове, беше приложен методът на хомозиготно картиране, базирано на данни от екзомно секвениране (HOMWES) със стандартни параметри на анализ, описани от Kancheva D. и съавт., 2016.

2.3.2.2. Потвърдителни анализи за връзката на идентифицираните кандидат-мутации с клиничния фенотип в семейството.

Идентифицираните при екзомното секвениране кандидат-патогенни варианти бяха потвърдени и бе проверена тяхната ко-сегрегация със заболяването в конкретното семейство, чрез класическо секвениране по Sanger. Функционалният ефект на кандидат-мутациите бе оценен *in silico* чрез използването на различни предикционни програми изчисляващи възможен фенотипен ефект на варианта. За предсказване ефекта на погрешносмислени мутации бяха използвани SIFT (<http://sift.jcvi.org/>), Polyphen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), Mutation Taster (<http://www.mutationtaster.org/>), Meta-SNP (<http://snps.biofold.org/meta-snp/>), Condel (<http://bg.upf.edu/fannsd/b/>), за варианти потенциално водещи до промени в сплайсинга - Automated Splice Site And Exon Definition Analyses (<http://splice.uwo.ca/>), NetGene2 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2/>), Human splicing finder (<http://www.umd.be/HSF3/HSF.html>).

2.3.2.3. Изследване на клетъчни култури от фибробласти, култивирани на температура 37 C под овлажнен 95% въздух /5% CO₂ в Dulbecco's модифицирана Eagle's среда

(DMEM, Gibco, Life Technologies), съдържаща глюкоза (4.5 g l⁻¹), 2mM глутамин, пеницилин (100U ml⁻¹), стрептомицин (100 mg ml⁻¹) и 10% фетален говежди серум (FBS). Фибробластите се отглеждат при наличие и липса на 100 ng/ml циклохексимид (CHX) за 24 часа.

2.3.2.4. Изолиране на РНК от фибробласти и цяла кръв чрез RAXgene Blood RNA система за определяне на функционален ефект на мутациите.

Допълнителни доказателства в полза на патогенността на кандидат-вариантите бяха събрани в базите данни и в литературата по следните показатели:

- Експресия на засегнатия ген в централната нервна система
- Фенотипна експресия на мутации в дадения ген в животински модели
- Принадлежност на засегнатия ген към клетъчна каскада с известна роля в развитието на съответните мозъчни структури и/или към патогенезата на заболяването
- Локализация на засегнатия от мутацията аминокиселинен остатък във важен структурен или функционален домен на белтъка, или близо до друга мутация със същия клиничен фенотип в 3D структурата на белтъка.

Създаден е регистър на пациентите с НМА, включващ данни за клиничното протичане, тип унаследяване, наличие на кръвно родство в семейството, етнически произход, географски район, наличие на биологични материали за изследване.

2.3.3. За целите на мутационния скрининг при заболявания с висока болестност в даден регион, като АТ, беше изолирана ДНК от филтърни бланки на новородени. Филтърните бланки са набавяни за целите на неонаталния скрининг и са предоставени от Националната генетична лаборатория. Основно предимство на този вид проби е възможността да бъдат съхранявани на стайна температура, без това да навреди на качеството на материала, както и лесното им транспортиране.

Принцип:

Изолиране на ДНК, базирано на взаимодействието между силика-гел мембрана и ДНК. Процедура:

От добре напоено с кръв място на филтърната бланка се изрязват дискове с диаметър 3 mm (по 3 броя от пробанд). Те се използват за изолиране на ДНК материал, като се подлагат на обработка с комерсиален кит. Следват се инструкциите на производителя (NucleoSpin Tissue кит).

Апаратура:

Центрофуга MiniSpin Eppendorf; вортекс Heidolph Reax Top; Biore Thermo E термоблок.

Дизайниране на праймери и намножаване с полимеразна верижна реакция на ДНК фрагменти, покриващи кодиращите екзони и екзон-интронните граници на гена АТМ.

Дизайнът на праймери за амплификация, беше извършен с помощта на софтуер за in silico PCR (UCSC In-Silico PCR - <https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>).

За оптимизиране на протокол за амплификация на таргетните региони бяха използвани теоретично изчислените температури на хибридизация. След серия от оптимизации беше изработен протокол за оптималните компоненти на амплификационната реакция

2.4. Статистически анализ

Данните са въведени и обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics 19.0. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе избрано $p < 0,05$.

При статистическата обработка на данните са приложени:

- Дескриптивен анализ – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване.
- Непараметричен тест на Ман-Уитни – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки

3. Резултати

3.1. Автозомно-доминантни атаксии

В настоящото изследване са установени пациенти със следните АД атаксии:

- СЦА1
- СЦА2
- СЦА6
- СЦА7
- СЦА14

3.1.1. СЦА1

В проучването са включени 21 пациента, принадлежащи към 17 родословия, като информация по отношение на възрастта на начало и възрастта на загуба на самостоятелна походка е събрана от пробандите за останалите членове на техните родословия от предходни поколения.

Средната възраст на начало е 41.2 г. (SD 7.2), варираща между 27 и 56 г., като първи прояви на заболяването при всички са залитане и нестабилност при ходене. Честотното разпределение на клиничните прояви, към момента на поставяне на диагнозата е представен на фигура 2.

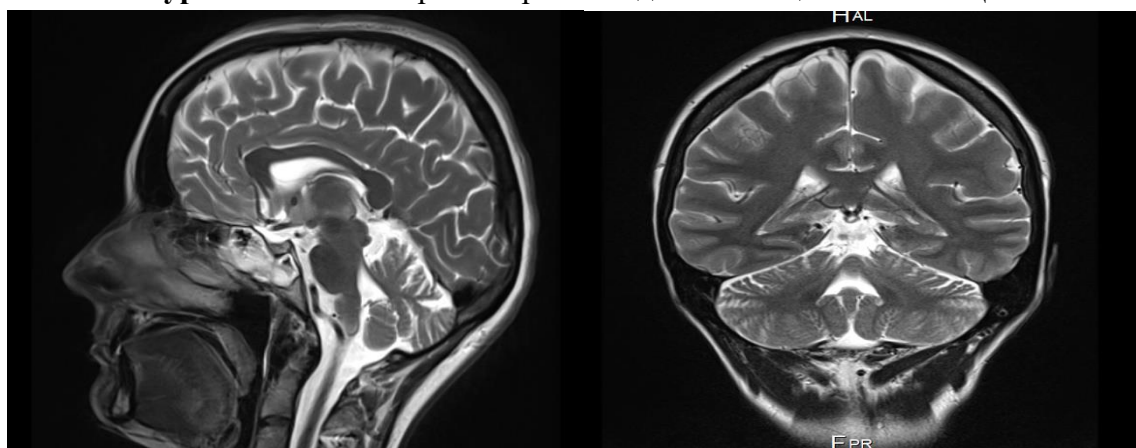
Дискоординационен синдром със статична, локомоторна и динамична атаксия, сакадирани очни движения, погледно провокиран нистагъм и дизартрия със скандиран говор са налице при всичките 21 болни. SARA варира между 6 и 24 в представения контингент. При 3 болни самостоятелната походка е невъзможна. Тя е загубена 10, 11, 14 г. след клиничното начало. При 8/21 (38.0%) се установява и лимитация на вертикалните верзионни очни движения. Квадрипирамиден синдром, без парези, но с патологично оживени СР, по-изразен за долните крайници с патологично рефлексии от групите на Бабински и Росолимо се установяват при 15/21 (71.4%), а псевдобулбарен синдром с дисфагия и положителни орални автоматизми при 3/21 (9.5%). Спастично повишен мускулен тонус в долните крайници е налице при 5/21 (23.8%). Полиневропатен синдром с дистална хипестезия за повърхностна сетивност е налице при 12/21 (57.1%), докато ЕНГ е с данни на аксонна периферностволова увреда само на сетивните влакна при 12/21 (57.1%) болни, докато при 5/21 (23.8%) се установява

периферностволова увреда на сетивните и моторните влакна. Тези 5 пациенти са с давност на оплакванията над 5 г. при провеждане на изследването. От проведеното невропсихологично изследване 18/21 (85.7%) са с леко когнитивно нарушение, с изразено засягане на езекутивните функции.

МРТ на главен мозък е с данни за малкомозъчна атрофия при всички болни, като при 12/21 (57.1%) се установява атрофия и на стволите структури, а при 5/21 (23.8%), при които давността на заболяването е над 7 г. от началото до проведеното изследване се установява и корова атрофия (фигура 3).



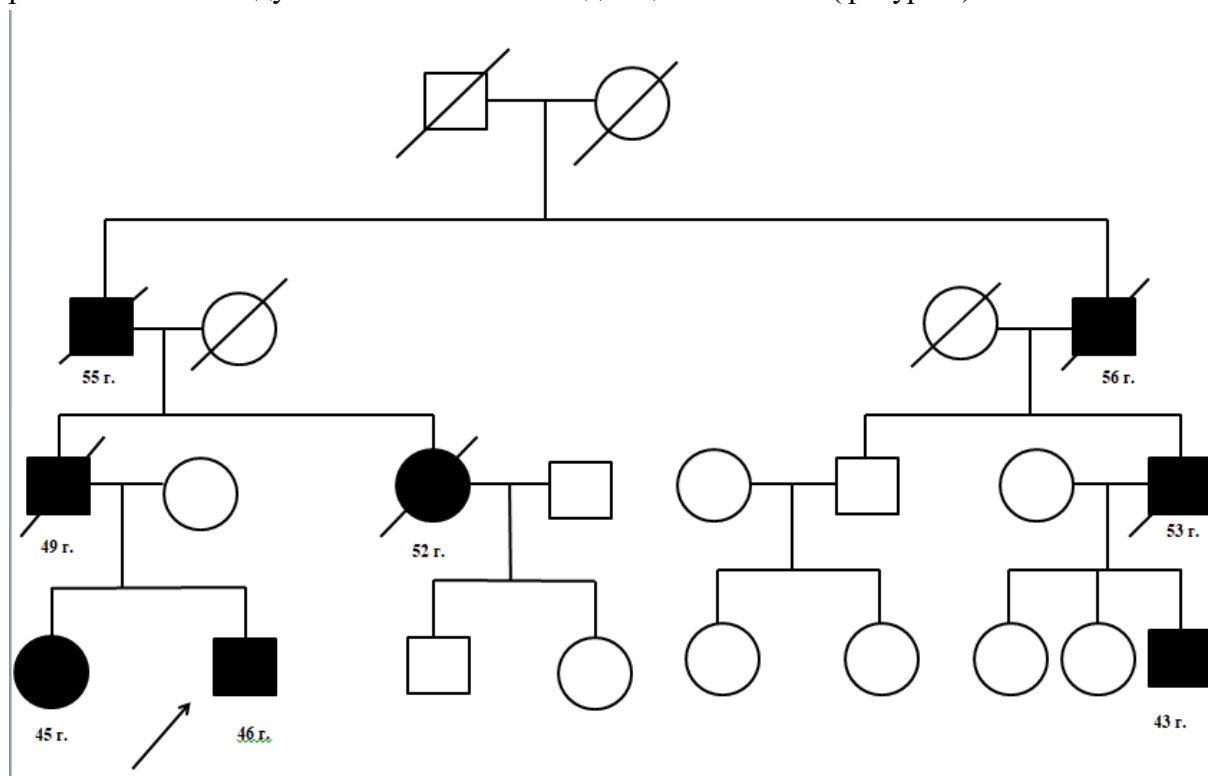
Фигура 2. Клинични прояви при изследваните пациенти със СЦА1.



Фигура 3. МРТ данни за лека малкомозъчна атрофия, комбинирана с атрофия на medulla oblongata и шийния миелон при пациентка на 32 г. с 2-годишна давност на оплакванията и експанзия от 50 CAG-повтора в *ATXN1*-гена. А SAGITAL T2. В Coronal T2.

В изследваната кохорта CAG-повторите в *ATXN1*- гена варират между 40 и 54 при нормални стойности под 39.

При три от родословията, при които има данни за началото на оплакванията на засегнатите в поне три последователни поколения се установява антиципация с по-ранно начало между 2 и 10 г. за всяко следващо поколение (фигура 4).



Фигура 4. Родословие на пациенти с генетично доказана СЦА1. С цифри до засегнатите болни е отбелязана възрастта им на начало. Демонстрира се по-ранно начало във всяко следващо поколение.

Обсъждане:

СЦА 1 е първата АД атаксия, която бива генетично верифицирана (Orr HT и съавт. 1993), като се установява, че е обусловена от динамични мутации в *ATXN1*- гена. Възрастта на начало е силно вариабилна между 4 и 74 г., което корелира с големината на CAG- експанзията (Di Donato S и съавт. 2012). Нормалният брой на CAG повторите в рамките на гена са под 39, а при пациентите със СЦА 1, описани до този момент, броят им варира между 39 и 83 (Schols и съавт. 2004).

От АД СЦА това е най-често срещаната форма в България, следвана от СЦА 2.

В нашата кохорта броят на CAG-повторите в *AXN1*- гена варира между 40 и 54, като средната възраст на начало е 41.2 г. (SD 7.2). Въпреки широката вариация в началото на клиничните прояви (между 27 и 56 г.) сред българските пациенти няма случай с начало в детска или юношеска възраст, което е вероятно всл. на по-малките установени експанзии. Типичната антиципация с по-ранно начало е установени при всички родословия, в които има информация за клиничното начало на засегнатите в три

последователни поколения, което е свързано с нестабилността на повторите по време на мейозата (Orr HT и съавт. 1993).

Дискоординационният синдром, наличен при всички болни, се асоциира най-често с квадрипирамиден синдром, като при $\frac{1}{4}$ от нашите болни е налице и спастично повишен тонус в долните крайници, което налага диференциалната диагноза с комплициран вариант на НСП (Di Donato S и съавт. 2012).

Очедвигателните нарушения, обусловени от церебеларни и екстрацеребеларни смущения, са типични, като сакадираните очни движения и нистагъмът са ранна проява, налична при всички наши болни. При тези с по-дълга прогресия се установява и лимитация на вертикалните верзионни очни движения (Klockgether T и съавт. 1998).

Редки прояви, описани от други автори, като оптична атрофия, хореични и дистонни хиперкинези не се установяват в нашата група (Di Donato S и съавт. 2012).

Когнитивното засягане е характерно за 85.7% от нашите болни, но е в рамките на леко когнитивно нарушения с преобладаваща дизекзекутивна симптоматика, което е типично при малкомоозъчно засягане.

ЕНГ данни за аксонна периферностволова увреда, предимно на сетивните влакна, по-рядко и на моторните са характерна проява, налична в над 80% от нашите болни, което е в съответствие с предшестващи описания (Pareyson D и съавт. 1999).

МРТ на главния мозък при нашите пациенти, аналогично на предшестващите описания, се характеризира с атрофия на малкия мозък, стволите структури и шийния миелон, а при по-голяма давност на заболяването и с корова атрофия (Burk K и съавт. 1996).

3.1.2. Клинична характеристика на пациенти с патологична експанзия в СЦА2.

СЦА тип 2 се установява при 18 пациента от 12 родословия.

Средната възраст на начало при пациентите в нашата група е 31.2 (SD 9.8), като варира между 7 и 44 г. При 4 от болните самостоятелната походка е невъзможна и е загубена 10-17 г. от началото са клиничните прояви.

Честотното разпределение на клиничните прояви, към момента на поставяне на диагнозата е представено на фигура 5.

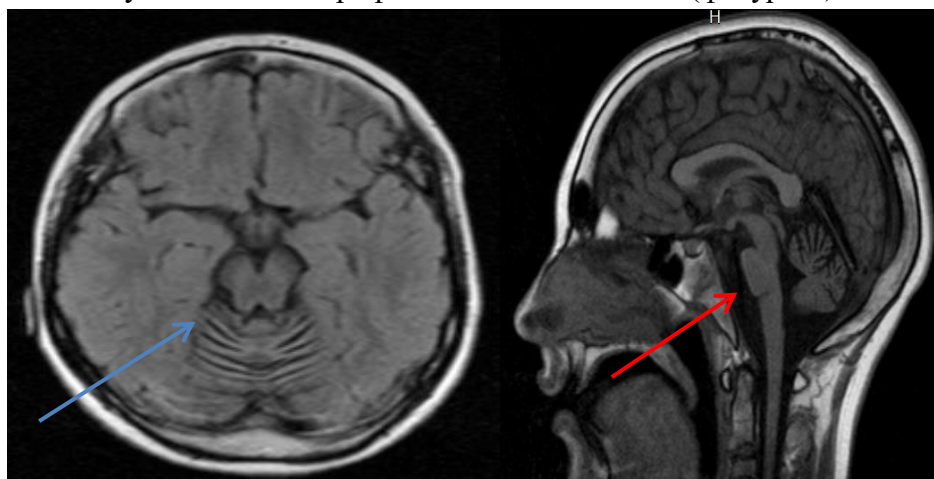
Дискоординационен синдром със статична, локомоторна и динамична атаксия е наличен при всички болни, наред с нистагъма и сакадираните очни движения. Лимитация на вертикалните верзионни очни движения е налична при 9/18 (50%) от болните. Дизартрия със скандиран говор е налице при 16/18 (88.9%). Дисфагия се установява при 10/18 (55.6%). Полиневропатен синдром с дистална хипестезия с или без хиперпатия се установява при 8/18 (44.4%), докато ЕНГ данни за периферностволова увреда от аксонен тип е налице само за сетивните нерви при 13/18 (72.2%), а за сетивните и моторните при 2/18 (11.1%). При 4/18 от иглената ЕМГ се установяват фасцикулации, фибрилации и М-отговори с характер на невrogenни, без да са налице клинични данни за прогресивно засягане на централния и периферния двигателни неврони. Миоклонии се установяват само при 1 болен, с най-ранното начало в кохортата- от 7-годишна възраст. Когнитивни нарушения са описани при 12/18 (66.7%), като при пациента с начало на 7-годишна възраст интелектът е ограничен

IQ 75, при 9 се установява ЛКН с преобладаваща дизекзекутивна симптоматика, а при 2 се открива лек дементен синдром.



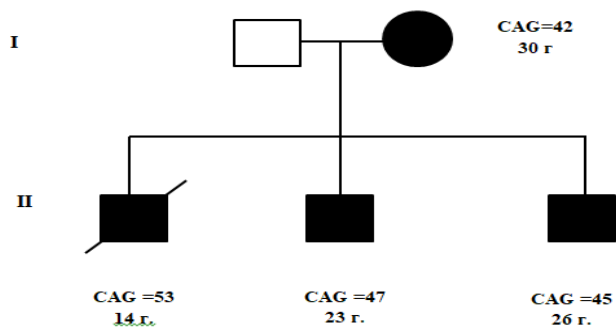
Фигура 5. Честотно разпределение на клиничните прояви при пациентите със СЦА 2.

При всички болни се установяват МРТ данни за малкомозъчна атрофия, при 16/18 се установява и атрофия на мозъчния ствол (фигури 6).

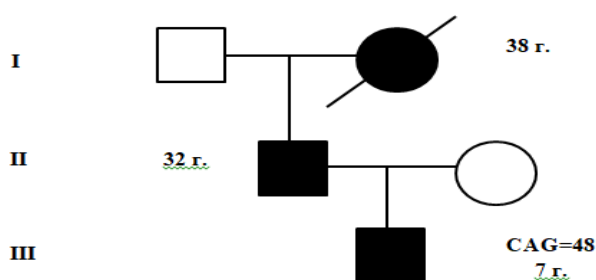


Фигура 6. МРТ на главен мозък на пациент на 12 г. с експанзия от 48 CAG в *ATXN2*-гена и начало на клиничните прояви на 7-г.в. Настице са атрофия на малкия мозък (стрелка) и мозъчния ствол (стрелка). А. AXIAL T2 FLAIR; В SAGGITAL T2 FLAIR.

CAG експанзията в *AXN2*-гена варира между 38 и 53 при норма под 35. При четири от родословията, при които има данни за началото на оплакванията на засегнатите в поне две последователни поколения се установява антиципация с по-ранно начало между 2 и 25 г. за всяко следващо поколение (фигури 7 и 8).



Фигура 7. Родословие на пациенти със СЦА2, демонстриращо антиципация във второто поколение. Представени са големината на експанзията и възрастта на начало.



Фигура 8. Родословие на пациенти със СЦА2, демонстриращо антиципация във второто и третото поколение. Представени са големината на експанзията и възрастта на начало.

Обсъждане:

СЦА 2 е форма обусловена от патологично експанзия на CAG- повтори над 35 в *ATXN2* с клинично начало между 2 и 70 г. (Auburger GWJ 2012). Сред изследваната кохорта от български пациенти това е втората по честота форма на АД СЦА.

Заболяването е с комплексен фенотип, при който дискоординационният синдром (Maschke M и съавт. 2005) се комбинира със стволото засягане в рамките на сакадирани очни движения, квадрипирамиден синдром, дисфагия, миоклонии, както и когнитивен дефицит, които се наблюдават с различна честота и в представената група. По-голямата CAG експанзия, освен с по-ранно начало се асоциира и с по-голяма честота и по-голям брой на допълнителните прояви на екстрацеребеларно засягане (Velazquez-Perez L и съавт. 2004).

В нашата кохорта броят на CAG-повторите в *ATXN2*- гена е 38 и 53, като началната възраст е 31.2 г. (SD 9.8), като варира между 7 и 44 г. Само при един пациент началото е в детска възраст- 7 г., той е и с най-голямата експанзия 53 CAG повторения, като това е единственият болен, при който е налице и екстрапирамидно засягане в рамките на миоклонии.

Типична характеристика от ЕНГ е аксонната сензорна невропатия, наблюдавана при 13/18 (72.2%) от пациентите в нашата група. При 4/18 от иглената ЕМГ се

установяват фасцикулации, фибрилации и М-отговори с характер на неврогенни, което вероятно се обяснява с клиничния континуум, обусловен от експанзиите в *ATXN2*-гена, включващ ЛАС при амплификация до 34 (Elden AC и съавт. 2010; Sproviero W и съавт. 2017) и СЦА при амплификация над 31 CAG (Antenora A и съавт. 2017). При изследваните болни липсват клинични данни за комбинирано засягане на централния и периферния двигателни неврони, като и анамнестични данни за родственици с диагностицирана ЛАС.

Типична особеност е комбинираната малкомозъчна и стволова атрофия, наблюдавана при 16/18 от болните (Maschke M и съавт. 2005), което корелира с наличието на екстрацеребеларни прояви.

3.1.3. СЦА 6

СЦА6 е установена при трима български пациента, принадлежащи към 2 родословия. Клиничните им характеристики са представени на таблица 3.

Таблица 3. Клинични прояви при българските пациенти със СЦА6.

Пациент	Пациент №1	Пациент №2	Пациент №3
Пол	Мъжки	Мъжки	Женски
Възраст на начало на клиничните прояви (г.)	1 г.	32 г.	35 г.
Възраст при поставяне на диагнозата	9 г.	45г.	47 г.
Изоставане в НПР	Да	Не	Не
Неврологичен статус-синдроми	Панцеребеларен и Квадрипирамиден	Панцеребеларен Квадрипирамиден синдром Булбарен синдром с дисфагия и отслабени фарингеални рефлексии	Панцеребеларен Квадрипирамиден синдром
МРТ на главен мозък	Малкомозъчна атрофия Хиперинтензни лезии около задните рога на страничните вентрикули	Малкомозъчна атрофия	Малкомозъчна атрофия
ЕМГ	В норма	В норма	В норма
Невропсихолог	Задръжка в	В норма	В норма

ично изследване	експресивната реч IQ 70		
Генетично изследване	с.4075C>T; р.Gly23Trp в 25 екзон на CACNA1A - гена	с.1997C>T; р.Thr666Met в 16 екзон на CACNA1A - гена	с.1997C>T; р.Thr666Met в 16 екзон на CACNA1A - гена

Обсъждане:

Представяме първите български пациенти с доказана СЦА 6, обусловена не от типичните експанзии (Jodice C и съавт 1997), а от точкови мутации (missense) в CACNA1A – гена. Този тип мутации са описани, като обуславящи епизодична атаксия тип 2 и прогресираща атаксия, клинично неразличима от случаите с експанзии. В нашата група клиничните прояви съответстват на прогресираща атаксия.

При пациент №1 клиничните прояви са много ранни в сравнение с предшестващите описания на заболяването (Gomez CM и съавт. 1997), но предвид непроследяваната бременност, усложнената перинатална анамнеза, наличния когнитивен дефицит и хиперинтензивните лезии на T2 около задните рога на латералните вентрикули, е възможно да става дума за коморбидност на ДЦП със СЦА 6.

Класическото начало при пациентите със СЦА 6 е в зряла възраст- между 19 и 73 г. (Gomez CM и съавт. 1997), което съответства на проявите, наблюдавани при болните 2 и 3. Дискоординационният синдром в нашата група се асоциира с квадрипирамиден синдром при всички засегнати, докато засягането на пирамидните пътища е установено при 40-50% от случаите от предходните описания (Gomez CM и съавт. 1997). Дисфагията е типична проява при тази форма, като в нашата група е налице при един болен. Екстрапирамидни прояви могат да се наблюдават при СЦА 6, но в нашата група не са налични (Gomez CM и съавт. 1997). Когнитивното засягане не е типично за СЦА 6, за разлика от СЦА 1 и 2, което се потвърждава и при пациенти №2 и №3 (Globas C и 2003).

МРТ на главния мозък е с данни за малкомозъчна атрофия, както и при нашите болни (Butteriss D и съавт. 2005).

3.1.4. СЦА 7

Установен е един болен със СЦА 7. Той е мъж на 21 г.в. с начало на оплакванията от 11-12 г.в., когато се появило замъглено зрение. Изследван в тази насока, изказано съмнение за диспигментация на ретините. От 16-17 г.в. се добавило и залитане в неопределена посока, без съществена прогресия в следващите години. Понякога залитането е съпроводено със световъртеж. От 18 г.в. съобщава за промяна в говора- станало му по-трудно да изговаря някои думи.

Фамилно обременен с брат, диагностициран с ДЦП и леля, сестра на бащата с нестабилна походка.

От неврологичния статус се установяват:

- Дискоординационен синдром със статична и локомоторна атаксия в неопределена посока. Походката е спастично-атактична. Установява се лека дисметрия и при НПП и КСП двустранно (SARA 7)
- Квадрипирамиден синдром с оживени СР в четирите крайника, повече в долни, поликинетични коленни рефлексии, клонуси на стъпалата двустранно
- Двустранна амблиопия

От ЕНГ се установява периферностволова увреда на сетивните и двигателни влакна на долните крайници от аксонен тип. SUDOSCAN е с данни за нормална електрохимична проводимост.

Невроофтальмологичното изследване доказва силно намалена зрителна острота: ВОД=0,1 - 0,15 н.к. ВОС=0,1 - 0,15 н.к. Окуломоториката е без отклонение в първа позиция, съхранени като обем очни сакади и плавно-проследяващи очни движения. При изследване на очните дъна макулите се визуализират с ясен фовеоларен рефлекс, с лека диспигментация. Morbus Stargardt (без Fundus flavimaculatus). В диференциално диагностичен план се обсъжда cone-rod dystrophy.

МРТ на главен мозък през 2019 и 2020 г. установява малкомозъчна атрофия с дилатация на интерфолиарните цистерни без динамика между двете изследвания.

Пациентът е общосъхранено когнитивно функциониране.

От генетичното изследване се установяват патологично увеличен брой (51) CAG-повтори по единия алел на ATXN7- гена.

Обсъждане:

При представения болен началото е в юношеската възраст с по-изразени зрителни нарушения и впоследствие добавили се лека атаксия и дизартрия. Въпреки че броят на CAG повторите в ATXN7 (51) е под 60, което се асоциира с класически фенотип с начало след 30- г.в., при нашия случай заболяването е с ювенилно начало и първа изява на зрителните нарушения (Andrew SE и съавт. 1997; Johansson J и съавт. 1998). Спорен е въпросът, дали cone-rod dystrophy предшества малкомозъчното засягане. В шветската кохорта при пациентите с CAG повтори под 59 атаксията предшества зрителното засягане, за разлика от случаите с над 59 повторения (Johansson J и съавт. 1998), където зрителното засягане е първо.

В хода на заболяването се дискоординационният и квадрипирамидният синдром прогресират, следвани от дисфагия и дизартрия, както се наблюдава и в нашия случай (Martin JJ 2012). Когнитивни нарушения, слухови халюцинации и поведенчески нарушения също се наблюдават при тези болни (Benton CS и съавт. 1998), но при описания болен не са типични.

МРТ на главен мозък установява малкомозъчна атрофия с дилатация на интерфолиарните цистерни без понтинна атрофия, която също се счита за типична (Bang OY и съавт. 2004), но е възможно да се прояви в хода на заболяването.

3.1.5. СЦА 14

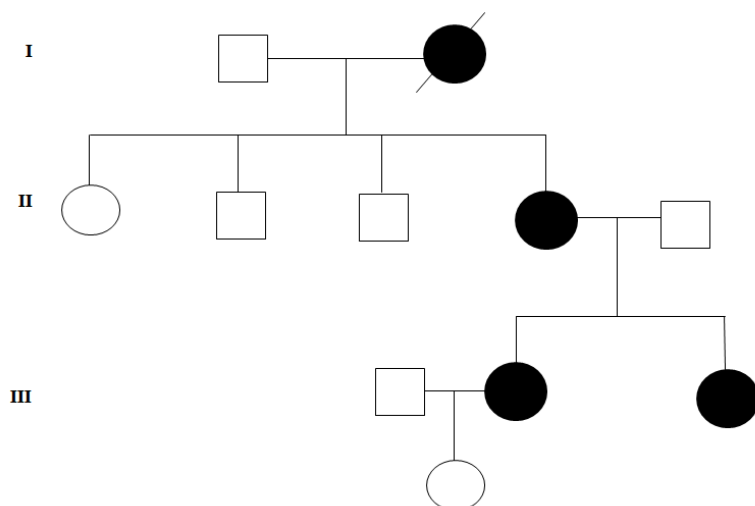
Установени са две семейства със СЦА14. Семейство С е с трима засегнати от две поколения със СЦА 14. Семейство К е с пет засегнати болни от три последователни поколения.

Клиничните прояви на засегнатите са представени на таблица 4.

Таблица 4. Клинични характеристики на пациентите със СЦА14.

Пациент	СП.4	СП.1	СП.2	КП.1
Пол	Женски	Женски	Женски	Мъжки
Възраст на начало на клиничните прояви (г.)	42	23	16	37
Възраст при поставяне на диагнозата (г.)	65	41	37	40
Неврологичен статус-синдроми	Панцеребеларен Квадрипирамиден	Панцеребеларен Квадрипирамиден Екстрапирамиден с дистонични хиперкинези в ръцете	Панцеребеларен Квадрипирамиден синдром Очедвигателен	Панцеребеларен Пирамидни белези
МРТ на главен мозък	Малкомозъчна атрофия Глиозни фокуси	Малкомозъчна атрофия	Малкомозъчна атрофия	Малкомозъчна атрофия
ЕМГ	В норма	В норма	В норма	Не
Невроофталмологично изследване	Сакадирани очни движения	Сакадирани очни движения	Инфрануклеарна пареза на п. abducens dex.	Сакадирани плавнопроследяващи очни движения; дребно амплитуден нистагъм при декстрроверзията.
Невропсихологично изследване	В норма	В норма	В норма	В норма
Генетично изследване	c.67G≥T; p.Gly23Trp в екзон 1 на <i>PRKCG</i> -гена	c.67G≥T; p.Gly23Trp в екзон 1 на <i>PRKCG</i> -гена	c.67G≥T; p.Gly23Trp в екзон 1 на <i>PRKCG</i> -гена	C.380A≥G; p.Gln127Arg в екзон 4 на <i>PRKCG</i> -гена

Родословието е представено на фигура 9.



Фигура 9. Родословие на българските пациенти със СЦА14.

При пациентите у установена мутация с.67G \ge T; p.Gly23Trp в екзон 1 на *PRKCG*-гена.

Обсъждане:

СЦА 14 е АД заболяване, обусловено от мутации в гена, кодиращ protein kinase C gamma (*PRKCG*), на която се падат между 1%-4% от всички АД СЦА. Въпреки че дълго време тази форма се е считала за чиста, с увеличаване на броя на диагностицираните болни се установява, че церебеларната атаксия се асоциира с други симптоми, като миоклонус, спастичитет, ригидно повишен мускулен тонус и леко когнитивно нарушение (Shirafuji T и съавт. 2019; Chelban V и съавт. 2018). В най-голямата генетично верифицирана кохорта от 25 пациента със СЦА14 до този момент Chelban V и съавт. откриват, че при повече от 1/3 от засегнатите фенотипът е комплексен (Chelban V и съавт. 2018).

В настоящото проучване на СЦА14 се падат 8% от общия брой на диагностицираните с АД форми, който е по-висок относителен дял в сравнение с установения в други изследвания (Verbeek DS и съавт. 2005).

В нашата кохорта заболяването започва в юношеска и зряла възраст (между 16 и 42-годишна възраст), като в семейство С е налице антиципация с по-ранно начало, независимо че СЦА14 не е от групата на заболяванията с патологична експанзия. Аналогични наблюдения са съобщавани и при други семейства със СЦА14 (Chelban V и съавт. 2018).

Фенотипът при двете семейства се характеризира с комбинация на дискоординационния синдром с квадрипирамиден, по-изразен за долните крайници, което се описва и в предшествващи проучвания, макар процентът на пациентите с пирамидни белези да е по-нисък- между 25 и 50% (Verbeek DS и съавт. 2005; Shirafuji T и съавт. 2019; Chelban V и съавт. 2018). Само една болна е с данни за екстрапирамиден синдром с дистонни хиперкинези в горните крайници, което е в съответствие с описаните до момента случаи (Shirafuji T и съавт. 2019; Chelban V и съавт. 2018). Миоклонус и когнитивни нарушения не се установяват в нашата група.

Двете missense мутации, които се откриват при нашите пациенти, са нови, неописани до момента (Chelban V и съавт. 2018), като преобладаващият тип мутации в *PRKCG* са точно missense. Двете нови мутации (с.67G>T; p.Gly23Trp в екзон 1 и С.380A>G; p.Gln127Arg в екзон 4) се локализиращат в регулаторната част на гена- С1 домен. In vivo експерименти доказват, че мутациите в тази част на гена намаляват афинитета на protein kinase C gamma за свързване с мембраната и фосфорилирането на субстрати, което води до повишаване на нивата на вътреклетъчния Ca и смущава вътреклетъчната сигнализация (Adachi N и съавт. 2008). За разлика от случаите с мутации в каталитичния домен при засягане на регулаторния район клиничните прояви са с по-късно начало и с по-нисък процент на екстрапирамидни и когнитивни нарушения, както е и при нашите пациенти (Chelban V и съавт. 2018).

3.2. Автозомно-рецесивни атаксии

В настоящото изследване са включени следните AP атаксии или AP заболявания с водеща атаксия:

- Болест на Friedreich
- Атаксия-телангиектазия
- Атаксия окуломоторна апраксия
- Церебротендинозна ксантоматоза
- Атаксия с дефицит на витамин Е
- Desequilibrium syndrome-церебеларна атаксия, умствено изоставане с или без походка на четири крака 1 (DES, CAMRQ1)
- ARCA 1
- Спастична атаксия на Charlevoix–Saguenay (ARSACS)
- ARCA3
- SCAR13
- Болест на Niemann Pick B
- Болест на Niemann Pick C
- Тремор-атаксия с централна хипомиелинизация (Хипомиелинизираща левкодистрофия 7- HLD7)
- Синдром на Boucher-Neuhäuser

3.2.1. Болест на Friedreich

В изследването са включени 31 болни от 20 родословия, 15 от тях са от мъжки пол, а 16- от женски пол.

При 30 от болните се наблюдава класически фенотип с начало преди 25-годишна възраст, а при една болна е налице късна форма на заболяването с начало на 30-годишна възраст.

Средната възраст на начало при нашите болни е 14.06 (SD 4.54) г., като при 4/31 (12.1%) началото на оплакванията е в първото десетилетие, при 26/31 (83.9%) началото е във второто десетилетие, а при 1/31 началото е в четвъртата декада.

Основните клинични особености като процентно разпределение на симптомите на изследваните пациенти са представени на фигура 10.

При всички изследвани са налице атаксия (SARA в диапазона 10-24), СР арефлексия за горни и долни крайници, нарушена дълбока сетивност в долните крайници, положителен патологичен рефлекс на Бабински и *res cavus*.

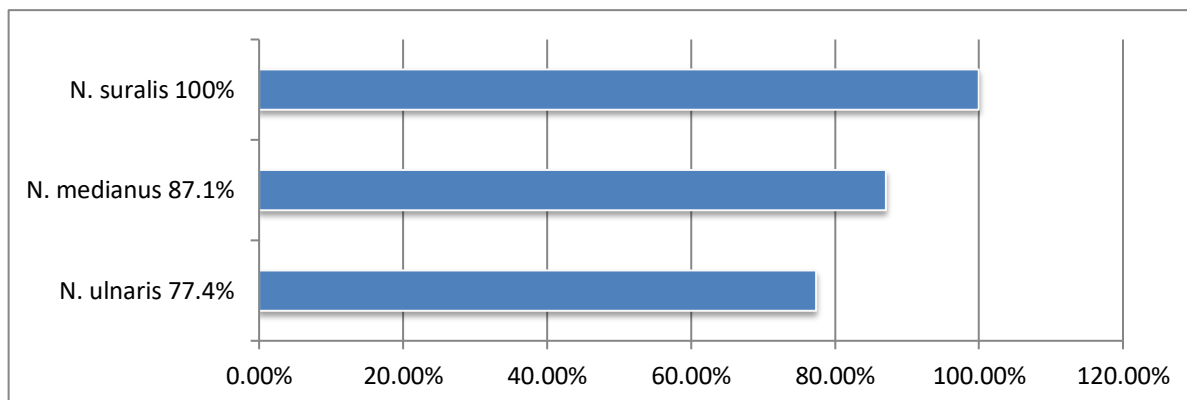
Кардиомиопатия (концентрична левокамерна хипертрофия) се установява при 77.4%, дизартрия- при 80.6%, сколиоза- при 48.6%, нистагъм- при 32.2 %, намален слух при 22.5%, атрофия на зрителните нерви при 19.3% и диабет при 12.9%.

МРТ данни за малкомозъчна атрофия са налице при 6/31 (19.4%), при МРТ проведен след 10 г. от клиничното начало. При 12/31 болни е проведен и МРТ на шийен миелон, като при всички са налице данни за атрофия на гръбначния мозък.



Фигура 10. Процентно разпределение на клиничните прояви при пациентите с болест на Friedreich.

При всички изследвани нерви процентът на засягане на сетивните влакна е много голям. Отсъствието на сетивен АП (СНАП) е основен критерий. Находките по този показател са идентични, независимо от давността на заболяването. За *n. ulnaris* СНАП липсва при 77.4 % от болните, а при останалите 22.6 % е с намалена А. СНАП липсва при 87.1 % за *n. medianus* и в 100% за *n. suralis* (фигура 11).

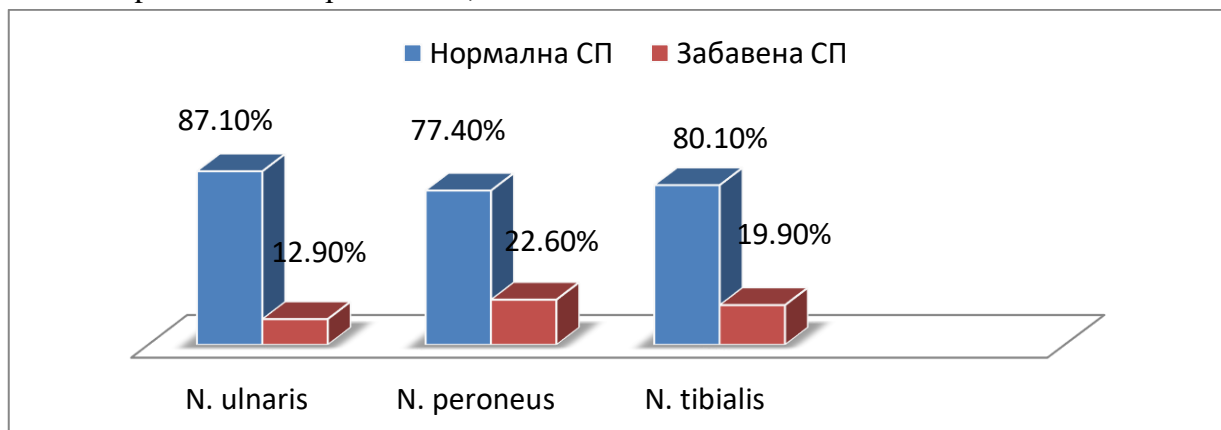


Фигура 11. Процентно съотношение на липсващия СНАП от n. ulnaris, n. medianus, n. suralis.

Вторият електрофизиологичен критерий е липсващ или с намалена А Н-рефлекс. В нашата кохорта Н-рефлекс от n. tibialis липсва при 67.7%, а в останалите 32.3% е с редуцирана амплитуда.

От проведените ЕНГ се установява нормална скорост на провеждане при по-голямата част от болните (фигура 12).

- n. ulnaris- в норма 87.1%; забавена- 12.9%
- n. tibialis- в норма 80.1%; забавена- 19.9%
- n. peroneus- в норма 77.4%; забавена- 22.6%



Фигура 12. Скорост на провеждане по моторните влакна при пациентите с болест на Friedreich

Мигателният рефлекс е с нормални параметри при изследваните болни с АФ.

Двадесет и девет от засегнатите са хомозиготни носители на патологична експанзия във GAA *FХN*-гена, а при двама патологичната по единия алел експанзия GAA се съчетава с точкова мутация Q148X по другия алел.

Обсъждане:

В съответствие със световните епидемиологични данни пациентите с болестта на Friedreich са най-голям брой в рамките на настоящото проучване (Harding A 1981; Alper G и съавт. 2003; Vankan P 2013).

Класически фенотип по възраст на начало и клинични прояви е налице при 96.7% от нашите болни, а само 1 пациент е с късно начало след 25-годишна възраст и сравнително по-доброкачествен ход със загуба на самостоятелна походка на 50-годишна възраст, без данни за сърдечно или ендокринно засягане. По данни на De Michele G и съавт. около 17% от пациентите в италианската кохорта са с късна форма (De Michele G и съавт. 1994). Тази разлика вероятно е свързана с по-рядкото изследване за болест на Friedreich при пациентите с атаксия с начало в зрялата възраст.

Типичните неврологични прояви като атаксия, СР арефлексия за горни и долни крайници, нарушена дълбока сетивност в долните крайници, положителен патологичен рефлекс на Бабински и *pes cavus* са налице при всички болни, което е в съответствие с предшестващи изследвания и описания (Harding A 1981; Alper G и съавт. 2003; Vankan P 2013).

В нашата кохорта сърдечно засягане се установява при 77.4%, като се описва концентрична левокамерна хипертрофия. Според някои автори е възможно да се установи и изолирана септална хипертрофия (Alper G и съавт. 2003), но такъв тип промени не са установявани в нашата група.

Захарен диабет е диагностициран при 12.9%, което е в съответствие с описанията от други проучвания (Alper G и съавт. 2003; Pandolfo M и съавт. 1998). При болестта на Friedreich сравнително рано в хода на диабета се налага започване на инсулинова терапия (Harding A 1981; Alper G и съавт. 2003; Vankan P 2013).

В нашата кохорта, аналогично на предшестващите описания МРТ данни за малкомозъчна атрофия са налице при малък процент от болните (19.4%) и то в случаите, когато е проведен в по-късните етапи на заболяването (Alper G и съавт. 2003; Pandolfo M и съавт. 1998), докато атрофия в областта на шийния миелон се установява при всичките 12 пациенти, при които е проведена, което корелира с хистопатологичните промени (Alper G и съавт. 2003; Pandolfo M и съавт. 1998).

От направените изследвания при болните с болест на Friedreich се установява предимно сетивна невропатия. Най-постоянната електрофизиологична находка е липсата на СНАП за *n. suralis* при всички болни, докато при стимулиране на *n. medianus* и *n. ulnaris* СНАП е силно снижен или отсъства. Тези електрофизиологични особености корелират със селективната дегенерация на невроните в спиналните ганглии (Pandolfo M и съавт. 1998).

Вторият електрофизиологичен критерий е липсата на Н-рефлекс при повечето болни, с изключение на трима, при които е силно намалена А, което подкрепя тезата за дегенерация на сетивните неврони в спиналните ганглии и на дорзалните коренчета. Загубата на големите миелинизирани влакна, което се открива и при млади болни, е следствие на дефект в съзряването и последваща дегенерация на специфични неврони и техните аксони (Bürk K 2017).

Запазенният мигателен рефлекс при изследваните болни с болестта на Friedreich потвърждава (Bhidayasiri R и съавт. 2015) теорията, че клетъчното ядро на *n. trigeminus* остава незасегнато. Това е още едно доказателство, че при болестта на Friedreich се засягат дебелите миелинизирани влакна, а влакната предаващи аферентния компонент на мигателния рефлекс са със средни размери, чиито аферентни клетъчни тела са също с малки или средни размери, поради което остават незасегнати.

Изследването на нервната проводимост по моторните и сетивните влакна на периферните нерви и Н-рефлекса са важни за ранната диагноза на болестта на Friedreich. Електрофизиологичните промени не са свързани с продължителността на заболяването, а са генетично детерминирани.

При 6% (2/31- брат и сестра) от пациентите в проучването класическата патологична експанция GAA във *FXN*-гена по единия алел се комбинира с точкова мутация по другия, като това не променя тежестта или фенотипната характеристика на заболяването. Счита се, че двойните хетерозиготи за мутации в *FXN*-гена са около 4% от пациентите в световен мащаб и фенотипът им не се различава от този на останалите (Pandolfo M и съавт. 1999).

3.2.2. Атаксия-телангиектазия

В изследването са включени 28 пациенти (българо-мохамедани), 15 от които от женски пол и 13-от мъжки, с генетично доказани 2 мутации в *ATM* гена, които са с много по-леко протичане от класическия фенотип на атаксия-телангиектазия, т.е. са с клинична картина на вариант на заболяването.

Двадесет и седем от тях принадлежат към 3 големи родословия от района на гр. Доспат и гр. Сърница и една болна № 28 е спорадичен случай.

Тяхните основни клинични характеристики са представени на таблица 5.

Таблица 5. Клинични характеристики на българските пациенти с атаксия-телангиектазия- вариант.

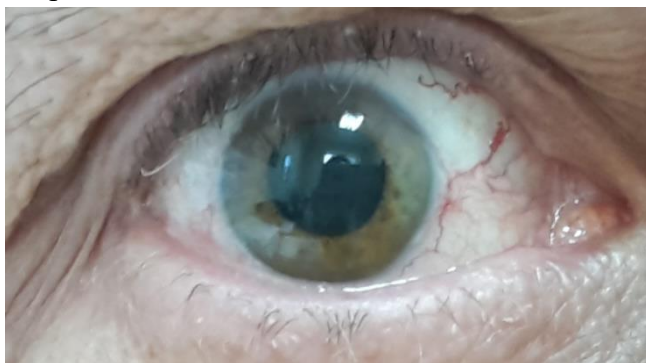
Пациент номер	Генотип по отношени е мутации в ATM гена	Пол	Дата на раждане	Възраст на начало	Дистонни и хореични хиперкинези				Тремор			Дистонична дизартрия	Дистонична дисфагия	Атаксия	Пирамидни белези	Телангиектазии	Неоплазми	Имунен дефицит	Алфа-фетопротеин	Невроизоб разяващи изследвания на главен мозък (КТ/МРТ/ПЕТ)
					Лице	Шия и трункус	Горни крайници	Долни крайници	Глава	Горни крайници	Долни крайници									
1.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	27.10.1973	17 г.	-	-	-	Д	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	НИ	МРТ- в норма
2.	p.V2716A/ p.V2716A	М	02.10.1976	16 г.	-	-	-	Д	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	43.01	МРТ в норма
3.	p.V2716A/ p.V2716A	М	17.06.1948	20 г.	-	-	Д>Л	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	НИ	НИ
4.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	16.08.1955	7 г.	+	+	Д>Л	+	-	Д	-	-	-	-	+	-	-	-	56.8	МР с данни за общомозъчна атрофия
5.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	19.06.1963	2 г.	+	+	Д>Л	Л>Д	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	39.3	НИ
6.	p.V2716A/ p.V2716A	М	25.10.1970	1 г.	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	НИ	НИ
7.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	04.06.1971	14 дн.	+	+	Д>Л	+	+	+	-	+	+	Ну	-	-	-	-	48.16	МРТ и ПЕТ в норма
8.	p.V2716A/ p.V2716A	М	19.04.2005	1 г.	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	НИ	МРТ в норма
9.	p.V2716A/ p.V2716A	М	26.09.1957	18 г.	-	+	Д	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	8.5	МРТ в норма
10.	p.V2716A/	М	03.01.1956	18 г.	-	-	-	-	+	Д>Л	-	+	-	-	-	-	-	-	НИ	МРТ в

	p.V2716A																			норма
11.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	05.06.1986	18 г.	-	+	-	-	+	Д>Л	-	-	-	-	+	-	-	-	НИ	МРТ- в норма
12.	p.V2716A/ p.V2716A	М	13.08.1975	1.3 г.	-	+	Л>Д	Л>Д	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	НИ	МРТ- в норма
13.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	2012 г.	1 г.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	НИ	НИ
14.	p.V2716A/ p.V2716A	М	2010 г.	1 г.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	НИ	НИ
15.	p.V2716A/ с.4909+1G >А	М	06.06.1952	40 г.	+	+	Д>Л	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	167	МРТ в норма
16.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	21.10.1985	13 г.	+	+	Л>Д	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	60.8	МРТ в норма
17.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	03.01.1972	1 г.	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	НИ	НИ
18.	p.V2716A/ p.V2716A	М	09.02.1966	1 г.	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	НИ	НИ
19.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	03.02.1955	14 г.	+	+	-	-	+	Д>Л	-	+	+	-	-	-	-	-	НИ	НИ
20.	p.V2716A/ с.4909+1G >А	Ж	08.01.1965	2 г.	+	+	-	+	+	Д>Л	+	-	-	-	-	-	-	-	НИ	НИ
21.	p.V2716A/ с.4909+1G >А	М	24.01.1959	4 г.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	НИ	НИ
22.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	18.10.1984 г.	1 г.	-	-	-	-	+	Л>Д	-	+	-	-	-	-	-	-	112.4	МРТ в норма
23.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	31.01.2011	1 г.	-	наляв о	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	18.9	МРТ в норма
24.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	04/01/1980	5 г.	-	наляв о	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	83.2	МРТ в норма

25.	p.V2716A/ p.V2716A	М	10.09.1965	17 г.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	32.9	МРТ- в норма
26.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	05.03.1955	6 г.	+	+	+	+	+	Д>Л	+	+	+	Инт енц ион ент рем ор в лям а рък а	-	+	-	-	25.4	МРТ- норма
27.	p.V2716A/ p.V2716A	Ж	28.05.1967	6 г.	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	НИ	НИ
28.	p.V2716A/ p.Lys119	Ж	12.05.1987	0.5г.	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	351.8	МРТ- Малкомоз ъчна атрофия

Средната възраст на начало при изследваните болни е 8.3 г. \pm 9.3 г., с вариация от 14 дена до 40 г., въпреки относителната генетична хомогенност, което предполага участието и на други гени модификатори, обуславящи тежестта на заболяването.

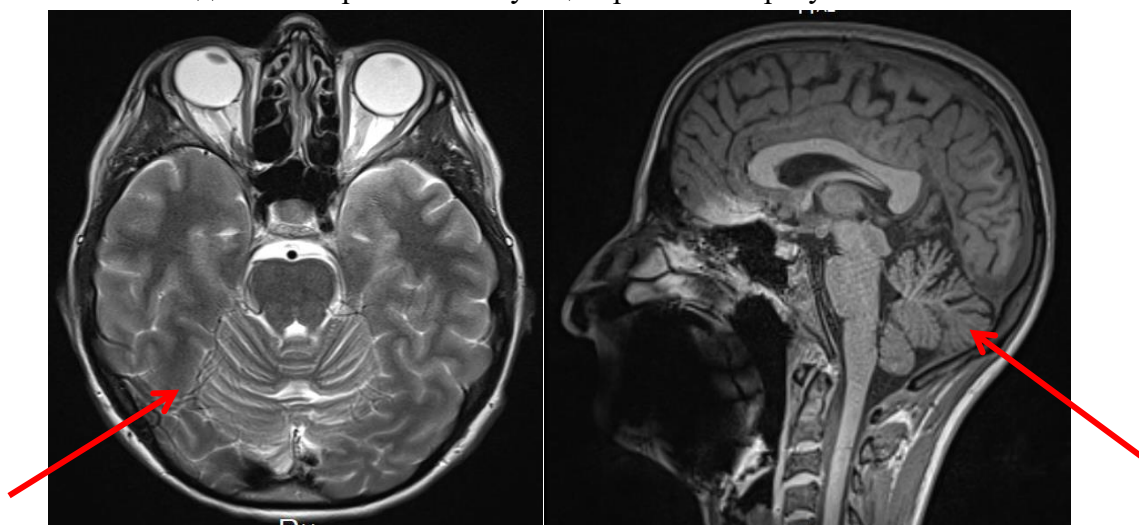
Основните клинични прояви включват дистонни хиперкинези, статичен и постурален тремор, ангажиращи предимно шията и горните крайници, дистонична дизартрия и при по-тежките случаи и дисфагия. Хореични хиперкинези се наблюдават при 10/28, а миоклонии- при 5/28. Тези прояви бавно прогресират във времето и са с различна тежест. Лека статична и локомоторна атаксия е налице при 5/28 (SARA 1-4). При 4/28 се установяват дилатирани конюнктивални съдове (фигура 13), които не са класическите телангиектазии, наблюдавани при класическия вариант на заболяването. Когнитивното функциониране на болните е в рамките на нормата за съответната възраст.



Фигура 13. Дилатирани конюнктивални съдове при пациент №15.

При 4/17 засегнати са налице данни за лека аксонна невропатия в долните крайници със снижени СМАП, респ. СНАП от nn. peronei и nn. surales.

МРТ на главен мозък е нормален, без данни за малкомозъчна атрофия или дегенеративни промени в областта на базалните ганглии при 16/17 изследвани, като само при една пациентка (номер 28) се установява малкомозъчна атрофия (фигура 14). Тя обаче е двоен хетерозигот за мутации p.V2716A/ p.Lys119 в ATM-гена.



Фигура 14. МРТ на главен мозък при пациент №28 (двоен хетерозигот р.V2716A/ р.Lys119) с данни за малкомозъчна атрофия (стрелка). А Axial T2; В Sagital T1

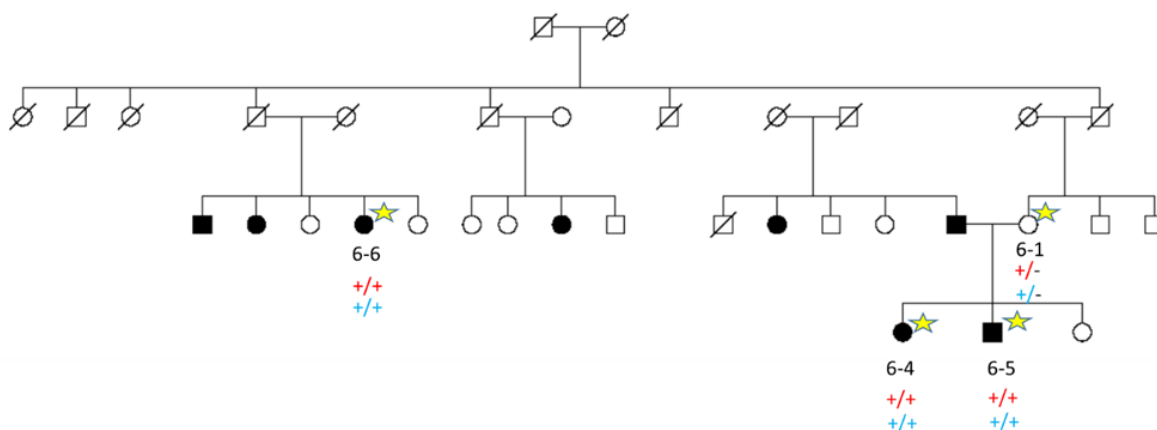
AFP е повишен при всички 13 болни, при които е изследван, което следва да се използва като скринингов маркер при съмнение за заболяването. Липсва корелация между тежестта на заболяването и стойността на алфа-фетопротеина в серума.

При никой от пациентите няма данни за много чести и тежки инфекции в детска възраст.

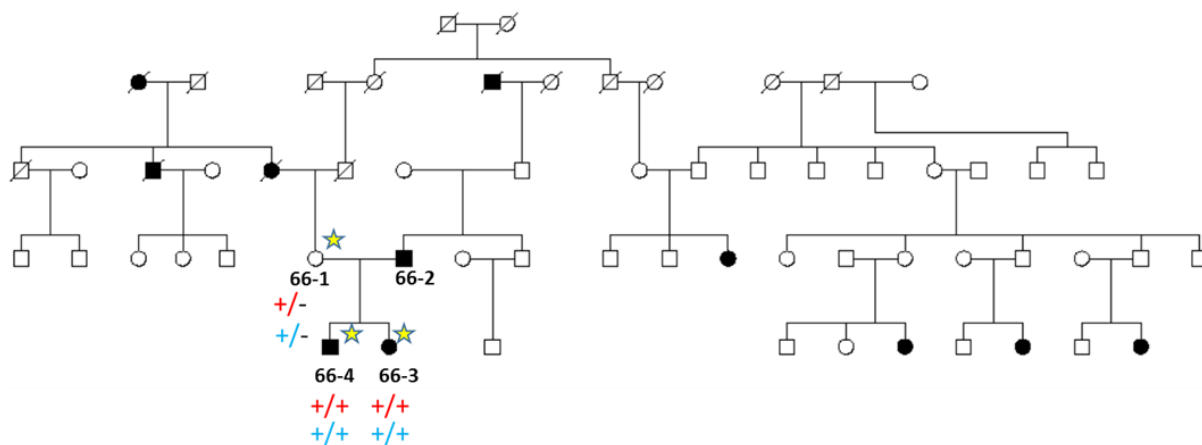
При 5/5 имунологично изследвани се установяват повишени ANA, като 3/5 са с абсолютна лимфопения, без анамнестични данни за чести инфекции. Липсва анамнеза за по-голяма честота на неоплазми след засегнатите и техните родственици, което не е типично, защото дори пациентите с вариантната форма на АТ са с по-висока честота на неоплазми.

Генетичната диагноза е поставена чрез екзомно секвениране (WES whole exome sequencing), (фигура 15, 16, 17). Хомозиготи с мутация с.8147Т>С (р.V2716А) в *ATM* гена са 24 от изследваните, останалите 4 са двойни хетерозиготи, при които горепосочената мутация се комбинира с р.Lys119 или с.4909+1G>А (фигура 18).

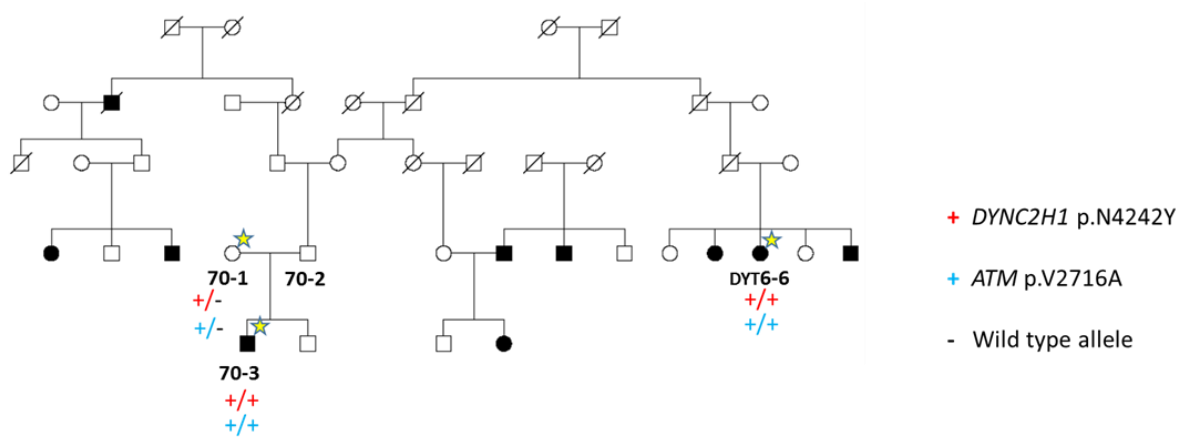
При пациент №2 чрез Western blot е оценена концентрацията на АТМ протеина в лимфобласти в сравнение с контроли с други заболявания. На фигура 19 се установява, че концентрацията на протеина не е намалена, но явно функцията е смутена.



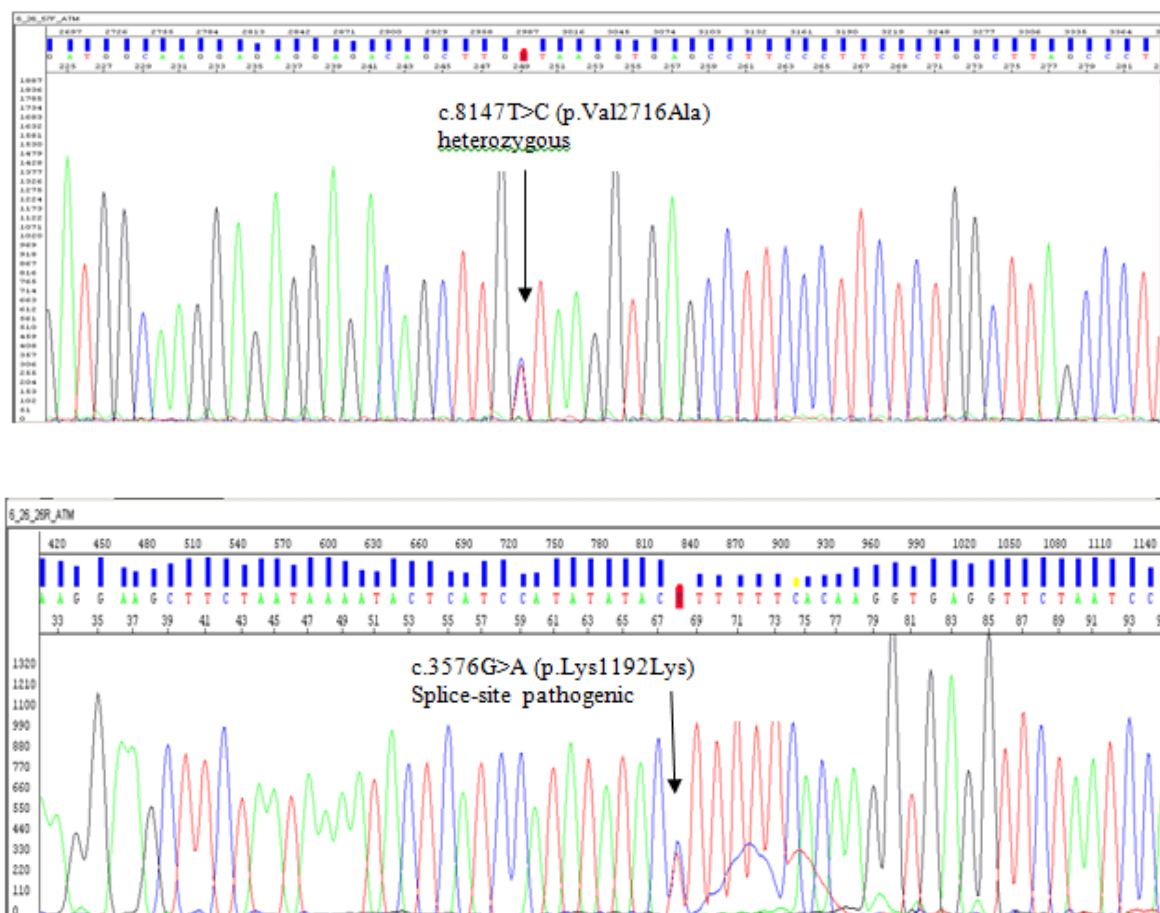
Фигура 15. Родословие 1 с АТ-вариант.



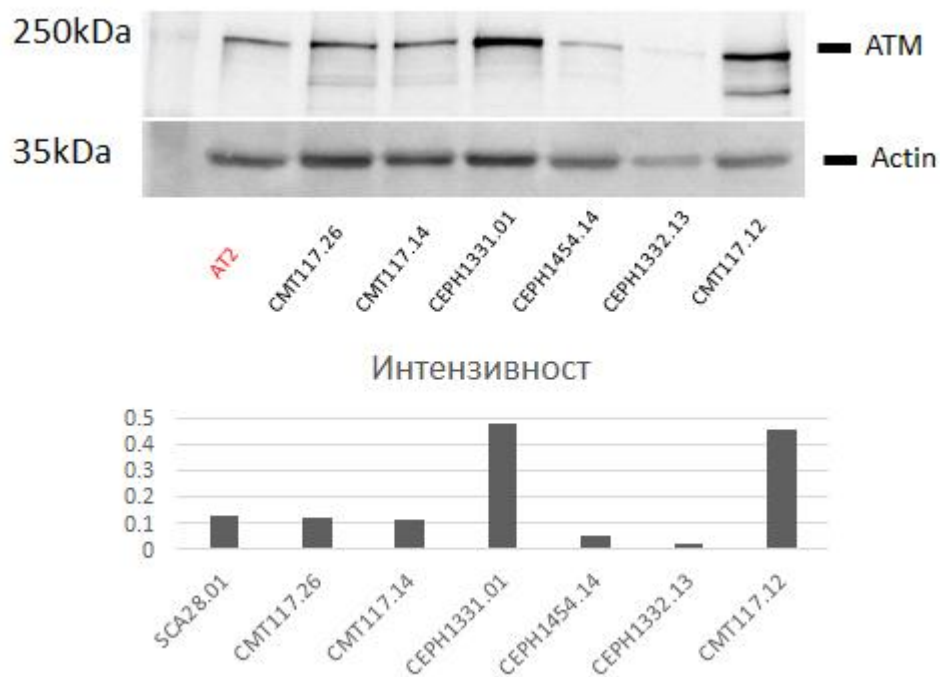
Фигура 16. Родословие 2 с АТ-вариант.



Фигура 17. Родословие 3 с АТ-вариант.



Фигура 18. Генотип на пациент № 28.



Фигура 19. Western blot е оценена концентрацията на АТМ протеина в лимфоласти в сравнение с контроли с други заболявания. Пациент №2 е отбелязан в червено, като АТ2.

Предвид установената концентрация на случаите на АТ-вариант в района на градовете Доспат и Сърница и наличието на псевдодоминантен тип на унаследяване в трите представени родословия се проведе скринингово изследване от 100 филтърни бланки на новородени от райни за носителство на двете типични мутации.

От скрининговото изследване е установен 1 носител- 1% носителство на р.V2716А в АТМ гена.

Обсъждане:

В класическия вариант атаксия-телангиектазия е мултисистемно заболяване с начало в детската възраст, при което мутациите в АТМ-гена водят до прогресираща церебеларна атаксия, телеангиектазии, повишен риск от неоплазми, радиосензитивност, имунен дефицит и нарушен фертилитет (Perlman SL и съавт. 2012; Shiloh Y и съавт. 2013). Развитието на молекулярногенетичните изследвания в последното десетилетие дава възможност при пациенти с лек или „атипичен“ фенотип да бъдат идентифицирани нови генни варианти в АТМ (Dork T. И съавт. 2004; Keimling M и съавт. 2011; Verhagen MM и съавт. 2012). Спектърът от клинични прояви, обусловени от мутации в АТМ гена, значително се разширява, включвайки вариантните форми с картината на изолиран екстрапирамиден хипотонично-хиперкинетичен синдром с преобладаващо засягане на шията и горните крайници, без атаксия, телеангиектазии, но винаги с повишен AFP (Verhagen MM и съавт. 2009; Saunders-Pullman R и съавт. 2012; Чамова Т и съавт. 2019).

В България е установен ендемичен район на варианта на АТ в гр. Доспат и гр. Сърница сред българо-мохамедани, при които това АР заболяване се наблюдава с псевдодоминантен тип на унаследяване в до 4 последователни поколения, което се свързва с високата честота на носителство на р.V2716А в АТМ гена (1% от новородените) и вероятно по-ограничената генетична вариабилност в това религиозно малцинство. Лека статична и локомоторна атаксия е налице при малък брой пациенти 5/28 (SARA 1-4), което се различава значително от класическите форми на АТ, при които ранната атаксия, водеща до загуба на самостоятелна походка преди 10-годишна възраст е основна характеристика на заболяването (Crawford TO 1998; Тодорова Д и съавт. 2007; Verhagen MM и съавт. 2009). Тази фенотипна вариабилност силно затруднява диагнозата, като тези пациенти са с предшестващи диагнози есенциален тремор и фокална или генерализирана дистония (Verhagen MM и съавт. 2009).

Вариантът на АТ е описан и в други инбредни популации, като са представени големи групи пациенти. Saunders-Pullman R и съавт. представят 35 пациенти от канадски мемонити с дистония-тремор синдром с преобладаващо ангажиране на шията и горните крайници, с начало между 1 и 20 г., аналогично на българската кохорта (Saunders-Pullman R и съавт. 2012). При част от засегнатите е била налична и нестабилна походка в детството, която не се наблюдава впоследствие. В някои случай дистонията е толкова тежка до степен да се наблюдава каптокормия (Raucar M. и съавт. 2018). Въпреки, че неврологичното засягане е по-леко и предимно с характер на

екстрапирамидни хиперкинези, честотата на злокачествените заболявания е по-висока в сравнение с тази в общата популация (Saunders-Pullman R и съавт. 2012). За повишен от неоплазми липсват данни при нашите болни и техните здрави родственици, хетерозиготни носители. Може да се спекулира, че ефектът на мутацията p.V2716A е по-доброкачествен поотношение на риска от туморогенеза, но за доказване на тази хипотеза са необходими по-задълбочени функционални изследвания. Schon K. и съавт. описват най-голямата кохорта от пациенти с вариант на А-Т, при които началото е предимно през първото десетилетие, по-рядко във второто (Schon K и съавт. 2019). Диагнозата е поставена между 1 и 20 г. след началото на оплакванията. Засегнатите са разделени на три основни групи в зависимост от водещия фенотип: 1. пациенти с церебеларна атаксия и/или полиневропатия, без или с минимални екстрапирамидни прояви; 2. болни с атаксия, полиневропатия и екстрапирамидни прояви; 3. пациенти с водещи екстрапирамидни прояви. Системните прояви са много леки, но рискът от неоплазми и тук е значително повишен.

Установената в нашата кохорта пациенти с АТ-вариант най-честа мутация p.V2716A в *ATM*-гена е описана и в предишни проучвания, но в комбинация с други с.5932 G_T (p.Glu1978X), (Verhagen MM и съавт. 2009) и с.7517–7520delGAGA (p.Arg2506ThrfsX3), (Demuth I и съавт. 2011) в рамките на двойно хетерозиготно носителство. И при тримата описани болни клиничната картина е атипична, в рамките на АТ-вариант. Въпреки установените запазени нива на АТМ протеина при Western blot на пациент №2, хомозигот за p.V2716A в *ATM*-гена, функционалните изследвания демонстрират намалена, но все пак резидуална активност на АТМ киназа (Verhagen MM и съавт. 2009; Demuth I и съавт. 2011), както и умерено намалена фофсорилираща активност по отношение на субстрата p-KAP1 (Fiévet A и съавт. 2019). Тези данни обясняват по-лекия клиничен фенотип в нашата кохорта, при която водещи са дистонните хиперкинези и тремора, но липсва имунен дефицит и инфертилитет.

Това проучване дава възможност за профилактика на нови случаи в засегнатите семейства и поставя въпроса за периодичен скрининг за неоплазми след засегнатата популация.

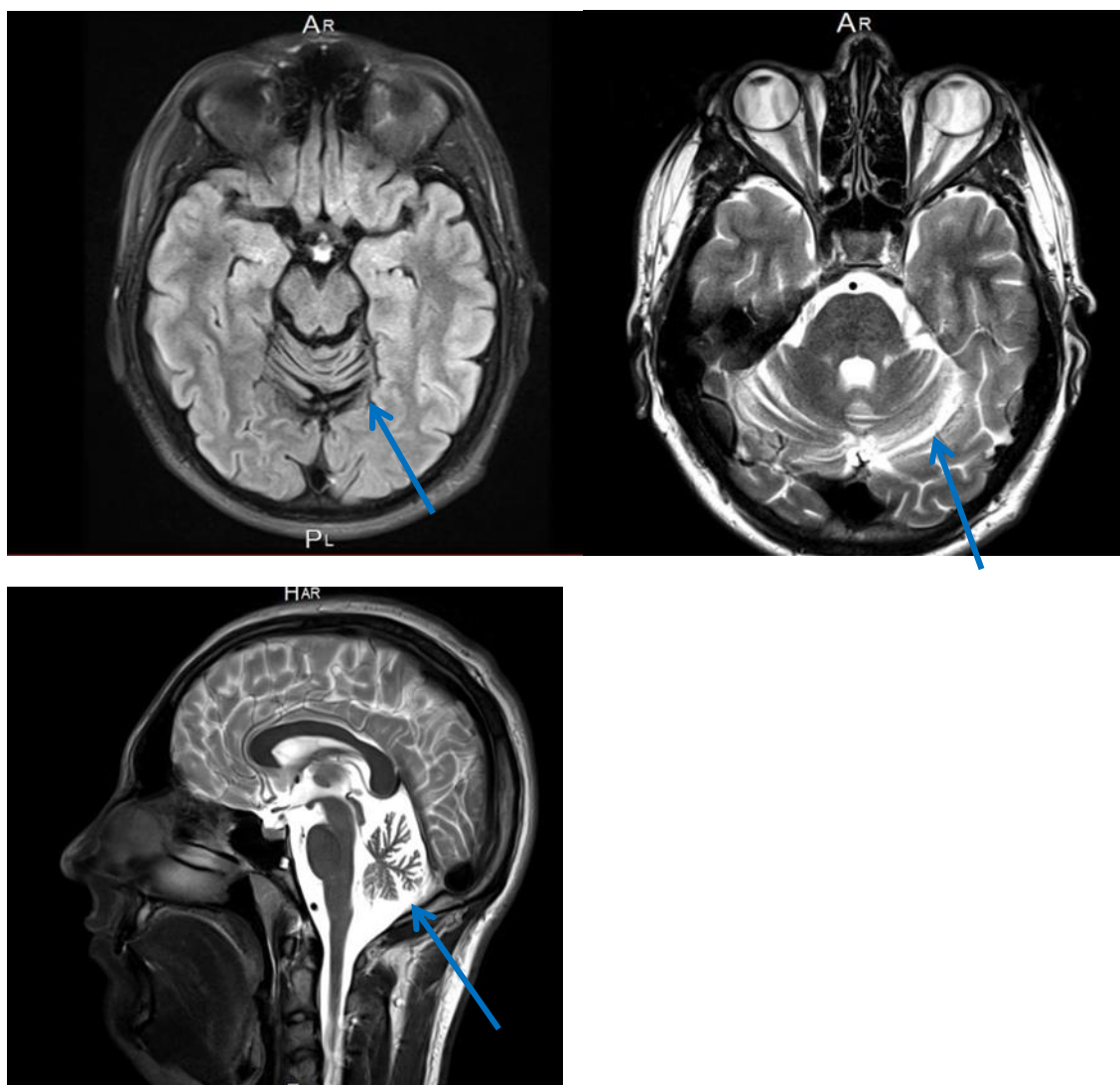
3.2.3. AOA2

В България са доказани двама болни с това заболяване (таблица 6).

Таблица 6. Клинични характеристики на пациентите с АОА2.

	Пациент №1	Пациент №2
Пол	Мъжки	Мъжки
Възраст на начало	18 г.	20 г.
Възраст при поставяне на диагнозата	29 г.	23 г.
Неврологичен статус-синдроми	Дискоординационен Лек полиневропатен	Дискоординационен Полиневропатен- изразен
SARA	20	18
Невроофталмолог	Нистагъм,	Нистагъм,
	без	без

	окуломоторна апраксия	окуломоторна апраксия
ЕНГ	Аксонна невропатия	Аксонна невропатия
Невропсихолог	Нормално функциониране	ЛКН
AFP	84.7	94.36
МРТ	Малкомозъчна атрофия	Малкомозъчна атрофия
Генетичени резултат	делеция в екзон 7, с.5825T>C в SETX- гена	с.6106+1G>T, с.5825 T>C в SETX- гена



Фигура 20. МРТ на главен мозък при пациент №2 с АОА2. Данни за атрофия на малкомозъчния вермис и хемисфери (стрелка). А. Axial T2 FLAIR. Б. Axial T2. В Sagittal T2

Обсъждане: АОА2 е заболяване, чиито основни клинични прояви включват начало в юношеска/млада възраст, прогресираща атаксия, аксонна полиневропатия, окуломоторна апраксия при около 50% от случаите и повишен AFP (Criscuolo С и съавт. 2006). Представените болни са двойни хетерозиготи по мутации в SETX гена, като една от мутациите с.5825 T>C е налице и при двамата болни, без те имат някакво

родство. Началото при двамата представени болни е през второто десетилетие, като те са и изразена и прогресираща във времето церебеларна симптоматика, но се различават по тежестта на полиневропатната симптоматика- леко изразена при първия болен, без дистална слабост и хипестезия и с налична перонеална слабост, смутена повърхностна сетивност и вибрационен усет при втория пациент. И при двамата болни нивата на AFP са повишени (Anheim M и съавт. 2010). Предвид факта, че две са основните форми на AP атаксии с повишен AFP- АОА2 и атаксия телангиектазия, изследването му при болни с неизяснени церебеларни атаксии би улеснило поставянето на диагнозата.

Въпреки че наименованието на заболяването включва окуломоторна апраксия, този симптом е наличен при половината от засегнатите болни (Tazir M и съавт 2009). При нашите два случая не се установява окуломоторна апраксия.

При пациенти с комбинация на атаксия с полиневропатия изследването на AFP е важен елемент на диагностичния процес.

3.2.4. Церебротендинозна ксантоматоза

Представяме двама болни от мъжки пол с церебротендинозна ксантоматоза. Те са спорадични случаи, принадлежащи към различни родословия. Техните клинични особености са представени на таблица 7.

Таблица 7. Клинични прояви на пациентите с церебротендинозна ксантоматоза.

	Пациент №1	Пациент №2
Пол	Мъжки	Мъжки
Възраст на начало	8 г.	10 г.
Начални клинични прояви	Трудно повлияваща се диария	Слабост в долните крайници
Възраст при поставяне на диагнозата	32 г.	39 г.
Неврологичен статус-синдроми	Квадрипирамиден Дискоординационен Лек полиневропатен Когнитивен дефицит	Квадрипирамиден Дискоординационен Лек полиневропатен Когнитивен дефицит
SARA	12	15
Ксантоми на ахилесовите сухожилия	Да	Да
Кифосколиоза	Да	Не
Невроофталмолог	ВОД=0,5 н.к. ВОС=0,8 н.к. ПОС - Артефакция окули утр.;	VOD=0,6; VOS=0,7; ПОС - Артефакция окули утр
ЕНГ	Аксонна невропатия	Аксонна невропатия
ЕЕГ	ЕЕГ от алфа тип с леки дифузни неспецифични промени. в широки	Не е проведено

	граници на нормата за възрастта.	
Невропсихолог	IQ 70%; MMSE 26	IQ 65%; MMSE 20
МРТ	Корова атрофия	Корова и малкомаозъчна атрофия
Ехография на коремни органи	Хепатоспленомегалия	Хепатоспленомегалия
Генетичени резултат	с.776A>G;p.(Lys259Arg) с.1184+1G>A	с.646 G≥C (pAla216Pro) с.1184+1 G≥A

Обсъждане: Церебротендинозната ксантоматоза е наследствено метаболитно заболяване с натрупване на липиди, при което е налице мултиорганно засягане (Nie S и съавт. 2014; Pilo-de-la-Fuente B и съавт. 2011). Основни клинични прояви са хронична диария, катаракти, сухожилни ксантоми, остеопороза, неврологично засягане в рамките на атаксия, квадрипирамиден синдром, полиневропатия, когнитивен дефицит и психични прояви при повишени нива на холестерол и жлъчни киселини в серума и урината.

Представените двамата пациента се с класически фенотип и изразена неврологична симптоматика, като при пациент №1 първите прояви са гастроинтестинални с хронична диария, налична и към момента на диагнозата, а при втория болен са неврологични- слабост в долните крайници и атаксия.

От неврологична гледна точка при никой от болните не са установяват епилептични пристъпи и екстрапирамидни прояви, без да са налице и МРТ данни за лезии в областта на базалните ганглии (Nie S и съавт. 2014), за което може да спекулираме, че е обусловено от комбинацията на мутациите в *CYP27A1* гена при нашите болни (Stelten BML и съавт. 2019).

И при двамата болни има данни за ранни двустранни катаракти (Dotti MT и съавт. 2001), наложили операции и ксантоми на ахилесовите сухожилия, които са патогномонични за болестта. Висцералното засягане е лимитирано до хепато- и спленомегалия при нормални чернодробни ензими и без данни за хиперспленизъм.

При двамата болни диагнозата е поставена от 24 до 29 г. след първите прояви (между 31 и 39 годишна възраст) и към момента на поставяне на диагнозата те са с разгърнатата картина на неврологично засягане. Това диагностично забавяне не е различно от установеното в други европейски страни (Pilo-de-la-Fuente B и съавт. 2011), но е важно да се намали предвид възможностите за лечение.

Нашите болни са двойни хетерозиготи за мутации в *CYP27A1*, като въпреки липсата на родство те имат обща splice-site мутация- с.1184+1G>A. Най-вероятно церебротендинозната ксантоматоза е заболяване, което остава скрито в групата на спастичните атаксии или комплицирания вариант на НСП.

3.2.5. Атаксия с дефицит на витамин E

Представяме първия диагностициран пациент в България с атаксия с дефицит на витамин Е. Мъж на 37 г., роден от нормално протекла бременност и раждане, с нормално невропсихично развитие, чиите оплаквания започват от 7-годишна възраст с треперене на ръцете, което от 20-годишна възраст обхващало и главата. От 34-годишна възраст започнал да получава пристъпи, по време на които гледа втрещено, пребледнява, прави движение с дясната ръка, сякаш се опитва да сграбчи нещо, като няма спомен за случилото се. Тези пристъпи били ежедневни, тогава е поставена диагнозата криптогенна епилепсия и е започната терапия с Невротоп ретард 2 x 300 мг. с добър ефект.

От неврологичния статус се установяват:

- Дискоординационен синдром със статична, локомоторна атаксия, лека дисметрия и интенционен тремор при НПП и КСП, дизатричен говор (SARA 15)
- Полиневропатен синдром с лека тиббиална и перонеална пареза, липсващи СР в долните крайници и отслабени в горните крайници.
- Екстрапирамиден синдром със статичен и постурален тремор в горните крайници.

ЕНГ е с данни за периферностволова уврена на сетивните влакна на крайниците, ЕЕГ е в норма, КТ на главен мозък е в норма. От невропсихологичното изследване болния е без данни за когнитивен дефицит. От невроофтальмологичното изследване не се установяват данни за пигментен ретинит.

WES установява хомозиготно носителство на мутация с.552G>A, р.Thr184 в *TTPA*-гена. При пациента е започната терапия с витамин Е 40 мг/кг. Със стабилизиране на атаксията.

Обсъждане: Откритият български пациент е с известна мутация в *TTPA*-гена, като началото му е класическо в детска възраст, но фенотипът е сравнително по-лек, с някои атипични характеристики, като епилепсия с комплексни парциални пристъпи, съхранена когнициия и нормално зрителна острота при нормален невроофтальмологичен статус.

Епилептичните пристъпи не се посочват, като типична характеристика за AVED, но има едно съобщение. Müller KI и съавт. описват пациентка с AVED, при която ГТКП са от 11-годишна възраст и са с добър ефект от терапия с Lamotrigine (Müller KI и съавт. 2011) и витамин Е. Теса предшества атаксията. В проучване на 100 деца с епилепсия с ГТКП и сравнение със 100 деца здрави контроли, при тези с епилепсия се установяват по-ниски нива на витамин Е. Дефицитът на този витамин, който е мастноразтворим антиоксидант в ЦНС може да се обсъжда като потенциална причина за епилепсия (Ogunmekan AO и съавт. 1979).

Въпреки, че зрителните нарушения се считат за типична особеност, насочваща към заболяването, в северноафриконската кохорта от 132 болни само 2.3% са с пигментен ретинит (El Euch-Fayache G и съавт. 2014). При пациента от ЕНГ е налице аксонна сензорна невропатия, която се описва при около 34% от пациентите (El Euch-Fayache G и съавт. 2014).

При пациенти с атаксия, квадрипирамиден синдром, полиневропатия е важно да се изследват серумните концентрации на витамин Е, защото това е една от лечимите форми на атаксия.

3.2.6. Desequilibrium syndrome-церебеларна атаксия, умствено изоставане с или без походка на четири крака 1 (DES, CAMRQ1)

Представяме трима болни с DES (две жени и един мъж) от две последователни поколения, принадлежащи към едно ромско семейство от групата на калдерашите, известни със своята ендегамност. Клиничните особености на болните са представени на таблица 8.

Таблица 8. Клинични характеристики на българските пациенти с Desequilibrium syndrome-церебеларна атаксия, умствено изоставане с или без походка на четири крака 1 (DES, CAMRQ1)

Пациент №	Кп II-1	Кп II-2	Кп III-1
Възраст на изследване (г.)	Починала на 40	40	19
Пол	Женски	Женски	Мъжки
Бременност и раждане	Нормални	Нормални	Нормални
Възраст на прохождение с подкрепа (г.)	11-12	10	10
Фразеологична реч (г.)	16	16	10
Епилептични пристъпи	Не	Не	Не
Ръст (cm)		150	154
Телесна маса (kg)		51	42
Обиколка на главата (cm)		50	45
Хипертелоризъм	Не	Не	Не
Високо небце	Да	Да	Да
Неврологична оценка			
Атаксия (SARA)	Да ^a	Да	Да
Походка (0-8)		7	8
Стоещ (0-6)		6	6
Седеж (0-4)		1	1
Дизартрия (0-6)		4	4
Посочване с пръст (Д+Л средно)/2 (0-4)		Не е изследвано ^b	Не е изследвано ^b
Носопоказалечна проба (Д+Л средно)/2 (0-4)		1	1

Адиадохокинезия (Д+Л средно)/2 (0-4)		Не е изследвано ^б	Не е изследвано ^б
Коляннo-стъпална проба (Д+Л средно) /2 (0-4)		Не е изследвано ^б	Не е изследвано ^б
Обща оценка SARA (0-40) ^с		19/28	20/28
СР в четирите крайника	Патологично оживени	Патологично оживени	Патологично оживени
Патологични рефлексии	Не	Не	Не
Страбизъм	Да	Да	Не
Погледно провокиран нистагъм	Да	Да	Да
Интелектуален дефицит	Умерен	Умерен	Тежък
МРТ на главен мозък			
Общо намален обем на мозъка		Да	Да
Мозъчна атрофия		Не	Не
Корови гънки		Пахигирия	Пахигирия
Малкомозъчна хипоплазия		Изразена- генерализирана	Изразена- генерализирана
Rons		Малък	Малък

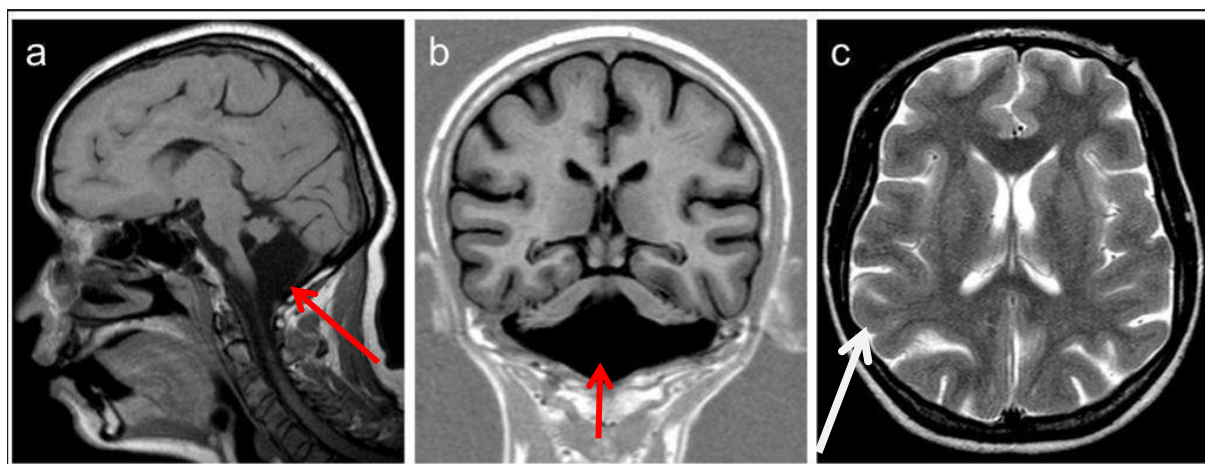
- а. Починалата пациентка е изследвана през 1997 и тогава SARA не е оценявана.
 б. Тежкия интелектуален дефицит не позволява да се изследват тези елементи на теста при пациенти №Кп II-2 и №Кп III-1.
 в. Максималната оценка е 28, а не 40, поради елементите, които не могат да се изследват.

Бременността и раждането и при тримата болни са били нормални. Телесната маса и ръстът на новородените са били в норма. Налице е тежко изоставане в НПП. Пациент КпIII-1 е бил хоспитализиран на възраст 10 мес., поради микроцефалия и изоставане. Никой от болните не е имал епилептични пристъпи. По данни на близките състоянието на засегнатите е непрогресиращо.

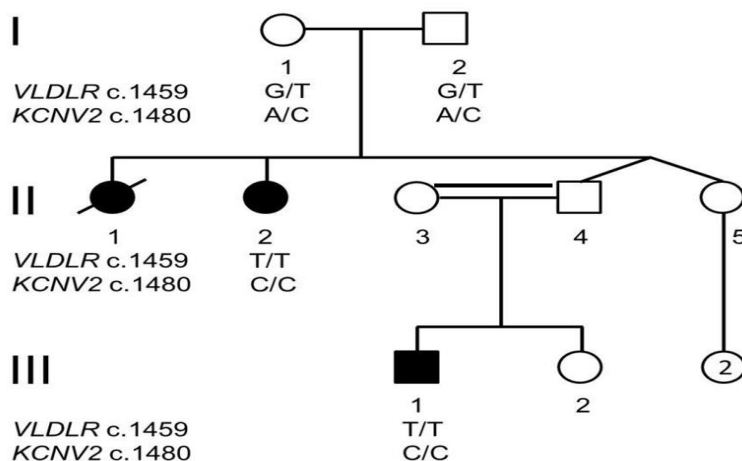
От изследването на соматичния статус болните са с нисък ръст и телесна маса, а при пациент №КпIII-1 се установява и микроцефалия. Диморфичните белези включват високо небце при всички и хипертелоризъм при №КпIII-1. Пациент №КпII-2 е с тежък комитентен, конвергентен страбизъм на дясното око.

От неврологичния статус се установява дискоординационен синдром с тежка статична и локомоторна атаксия, мускулна хипотония, умерено изразена дизартрия и лека дисметрия и интенционен тремор. Установяват се хоризонтален нистагъм и пирамидни белези. Интелектуалният дефицит е умерено тежък при №КпII-1 и №КпII-2, които казват прости изречения и тежък при №КпIII-1, който казва единични думи, но всички разбират и изпълняват прости команди

ЕНГ и ЕМГ при болните са в норма. МРТ на главния мозък при №КпII-2 (фигура 21) е с данни за намален размер на мозъка, хипоплазия на малкия мозък и моста, по-изразена за долната част на vermis и пахигирия. Четвъртият мозъчен вентрикул всл. на церебеларната хипоплазия изглежда дилатиран.



Фигура 21. МРТ на главен мозък при пациент №Кп II-2 с данни за хипоплазия на малкия мозък, по-изразена за долната част на vermis (стрелка) А. Sagittal T1W и Б. Coronal T1W В. Axial T2W Пахигирия (стрелка).



Фигура 22. Родословие на българските пациенти с Desequilibrium syndrome-церебеларна атаксия, умствено изоставане с или без походка на четири крака 1 (DES, CAMRQ1).

WES установява два генни дефекта в хомозиготно състояние (фигура 22): G>T (hg19 chr9:2645720; NM_003383.3, екзон 10: c.1459G>T (NP_003374.3: p.Asp487Tyr)) във *VLDLR* и A>C (hg19 chr9:2729569; NM_133497.3, екзон 2: c.1480A>C (NP_598004.1: p.Asn494His) в *KCNV2*, ген кодиращ субединица на калиев канал.

Дефекти във *VLDLR* – ген се асоциират с малкомозъчна атаксия, умствено изоставане и disequilibrium syndrome 1, CAMRQ1 докато мутациите в *KCNV2* водят до ретинна дистрофия на конусчетата.

При изследването на 566 здрави ромски контроли за носителство на p.Asp487Tyr във *VLDLR* се открива само един носител, което означава, че това е частна мутация за въпросното инбредно семейство. От друга страна генният дефект в *KCNV2* се оказва доста чест с наличие на 101 хетерозиготи (14%) и 8 хомозиготи (1.1%), поради което се прие, че става дума за полиморфизъм.

Обсъждане:

Представяме инбредно семейство роми с AP заболяване, клинично характеризиращо се с изоставане в НПП, умерена до тежка умствена изостаналост, непрогресиращ тежък дискоординационен синдром, нистагъм и пирамидни белези. От МРТ на главния мозък основни особености са намален размер на мозъка, пахигирия и тежка хипоплазия на малкия мозък и моста. Този фенотип се класифицира в широкия спектър на заболяванията от групата на лисенцефалия и малкомозъчна хипоплазия (LCH). Тази група е клинично и генетично хетерогенна, като се установяват мутации в гени, участващи в цикъла на Reelin-свързаната невронна миграция, но много от случаите остават генетично неизяснени (Barkovich A. 2012).

Генетичният анализ на българското семейство установява нова мутация p.Asp487Tyr във *VLDLR*- ген, класифицираща нашите болни към групата на болните с DES. Клиничният фенотип е сходен с този на пациенти с други мутации във *VLDLR* (Ali BR и съавт. 2012; Woycott KM и съавт. 2009).

VLDL рецепторът се отнася към семейството на low density lipoprotein (LDL) рецептори. За този рецептор е известно, че регулира reelin-свързаната сигнализация, чрез интернализация и промени в конформацията си (фигура 32), (Duit S и съавт. 2010).

Предполага се, че мутацията нарушава структурата на рецептора. От друга страна молекулите с дефект р.Asp487Tyr могат да достигнат до клетъчната повърхност и да нарушат reelin сигнализацията чрез потискане на дисоциацията на лиганди и рециклирането на рецептора чрез интернализация.

Тези нарушения обуславят и клиничните сходства на пациентите с мутации във VLDL и тези с мутации в други гени, асоциирани с reelin-свързаната сигнализация.

3.2.7. AP церебеларна атаксия 1 (ARCA1)

Представяме първия диагностициран в България пациент с ARCA1. Мъж от ромски етнос, от групата на копанарите, на 45 години с начало на оплакванията от около 31-годишна възраст., когато постепенно походката му станала по-нестабилна и започнал да залита. От 41 годишна възраст говорът му е станал дисфоничен и дизартричен, започнал да се задява при хранене.

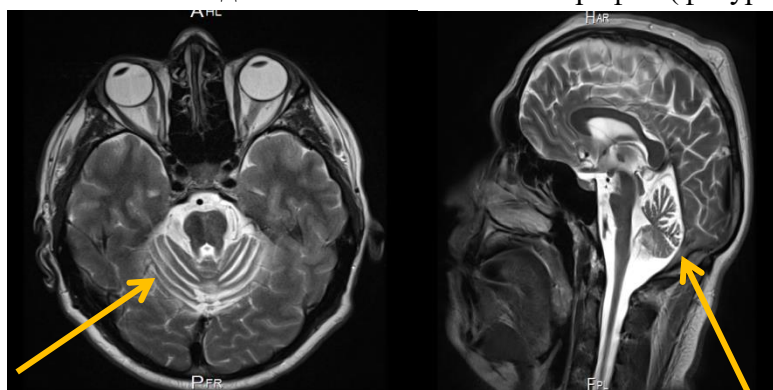
Съобщава, че има първи братовчед по бащата линия, който е бил с аналогични оплаквания, но екзитирал на 45 г.

От неврологичния му статус се установяват:

- Дискоординационен панцеребеларен синдром, предимно палеocereбеларен със статична и локомоторна атаксия, дизартричен говор, при Ромберг - залита с отворени и затворени очи, сакадирани плавнопроследяващи очни движения. Походката е атактична, на широка основа. Налице са дисметрия при коленно-стъпалната проба и интенционен тремор при носо-показалечната проба, дисдиадохокинезия.
- Булбарен синдром с дисфагия, дизартрия и отслабени фарингеални рефлексии.
- Синдром на долна централна парапареза със спастично повишен мускулен тонус в долните крайници, патологично оживени СР и набелязан Бабински в дясно.

От проведеното електромиографско изследване се установява увреда на периферния двигателен неврон в крайниците и езика.

MPT е с данни за малкомозъчна атрофия (фигура 23).



Фигура 23. МРТ при българския пациент, хомозигот за мутация с.6071+1G>A в интрон 41 на SYNE1. Данни за малкомозъчна атрофия (стрелка). А. AXIAL T2; Б. SAGITAL T2;

Невроофтالمологичното изследване е с данни за лекостепенна инфрануклеарна лезия на n. abducens dex. и сакадирани плавно-проследяващи очни движения във всички посоки.

Когнитивното функциониране е в границите на нормата.

От WES се установява, че пациентът е хомозигот за мутация с.6071+1G≥A в интрон 41 на *SYNE1*.

Обсъждане: Представеният случай е първият и на този етап единствен за България, дължащ се на нова, несъобщавана до момента хомозиготна мутация в *SYNE1*. Фенотипът на нашия болен е с характеристика на атаксия плюс засягане на централния и периферния двигателни неврони, доказани чрез клиничното и електромиографското изследване и описан от други автори (Mademan и съавт. 2016; Yoshinaga T и съавт. 2016). При нашия пациент атаксията предшества криничното засягане на двигателните неврони, което е налице при около 50% от болните (Mademan и съавт. 2016) и липсва когнитивен дефицит. Установяването на хомозиготна мутация в пациент, принадлежащ към ендегамна група поставя под въпрос възможната по-голяма честота на зобаляването след ромите-копанари.

3.2.8. Спасителна атаксия на Charlevoix–Saguenay (ARSACS), (таблица 9)

В България до този момент генетично са доказани четирима болни с ARSACS, чиито клинични характеристики са представени на таблица 9.

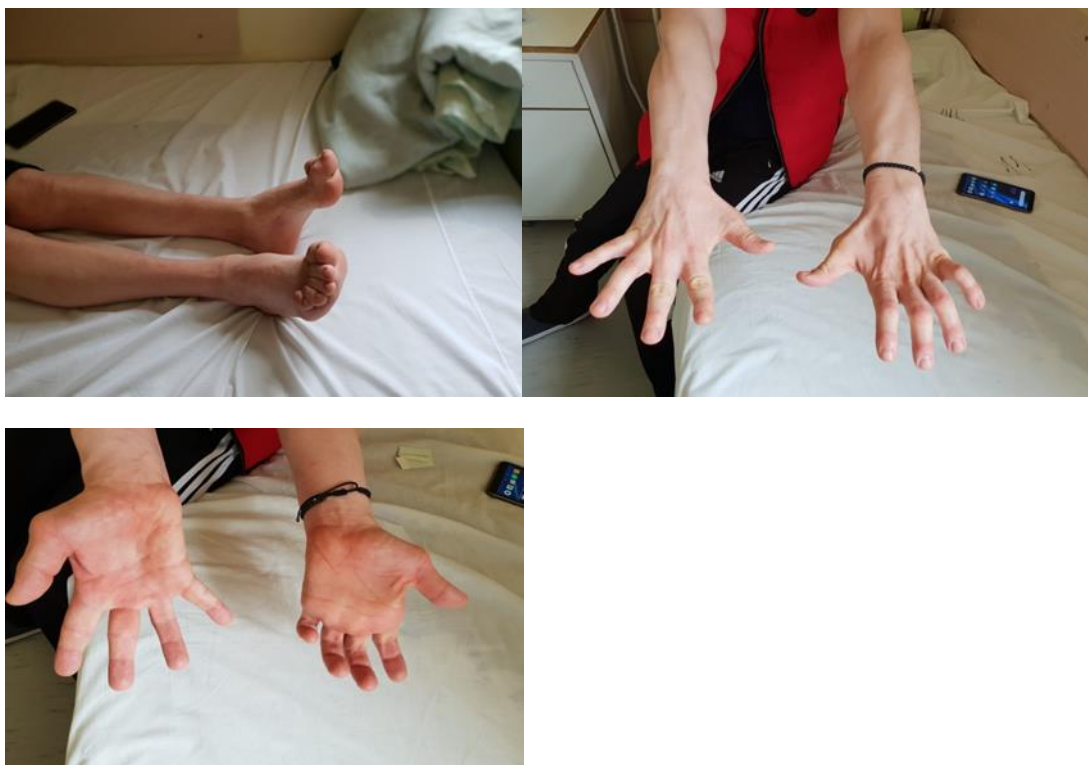
Таблица 9. Клинични характеристики на българските пациенти с ARSACS.

Пациент №	1	2	3	4
Пол	М	Ж	М	Ж
Възраст на начало (г.)	1.8	7	15	Под 1 г.
Възраст на последен преглед (г.)	37	44	40	17
Ранно моторно развитие	Изоставане в проходаването	Нормално	Нормално	Изоставане в психомоторното развитие
SARA	19	24	27	21
SPRS	23	6	10	16
Самостоятелна походка	Възможна	Възможна с проходилка от 35 г.	Възможно с бастун от 34 г.	Възможна
ЕНГ	Демиелинизираща с вторична аксонна дегенерация.	Демиелинизираща с вторична аксонна дегенерация.	Демиелинизираща с вторична аксонна дегенерация.	Нормална
Допълнителни прояви	Мускулни крампи и невропатна болка	Епилепсия и леко когнитивно нарушение	Епилепсия и леко когнитивно нарушение	Не
МРТ на главен мозък	Малкомозъчна атрофия с по-изразено ангажиране на вермиса, хипоинтензни лезии	Малкомозъчна атрофия с по-изразено ангажиране на вермиса, хипоинтензни	Не е проведен	Лека церебеларна атрофия, предимно за вермиса

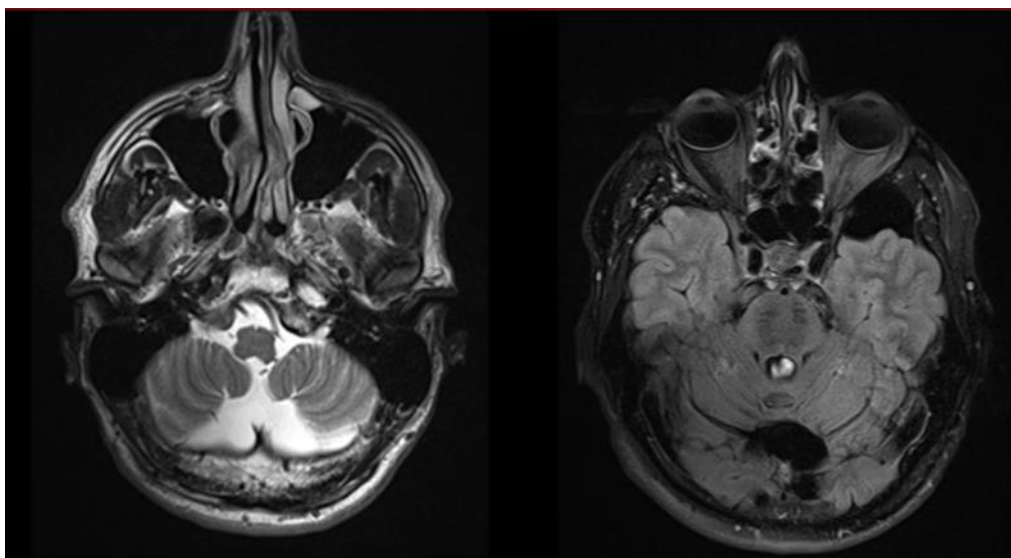
	в областта на мостта	лезии в областта на мостта		
ОСТ	Липса на физиологична фовеоларна депресия на двете очи и значимо задебеляване на глобалния перипапиларен ретинен нервен слой	Липса на физиологична фовеоларна депресия на двете очи и значимо задебеляване на глобалния перипапиларен ретинен нервен слой	Липса на физиологична фовеоларна депресия на двете очи и значимо задебеляване на глобалния перипапиларен ретинен нервен слой	Нормална дебелина на глобалния перипапиларен ретинен нервен слой
Мутации в <i>ARSACS</i>	c.13469_13470delAT и c.10062delT	c.13588G>T / NP_055178.3: p.Gly4530Cys в хомозиготно състояние	c.13588G>T / NP_055178.3: p.Gly4530Cys в хомозиготно състояние	p.Asp4192Gly в екзон 10 и p.Thr904Arg в екзон 10

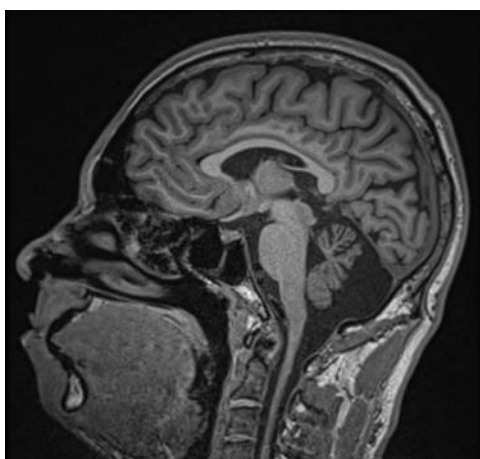
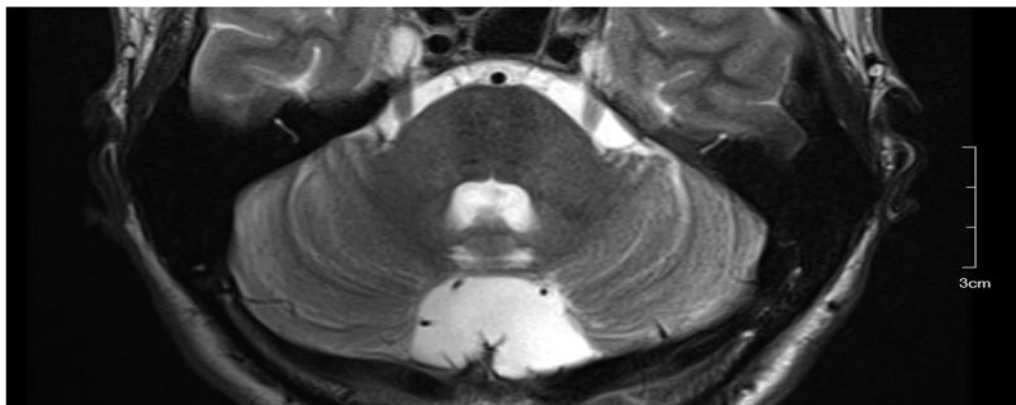
Таблица 10. ЕНГ данни за пациент №1 с *ARSACS*.

	36 годишна възраст		
Сетивни	CV (m/s)	A (μ V)	DL (ms)
n. Medianus	Не се получава	Не се получава	Не се получава
n. Ulnaris	Не се получава	Не се получава	Не се получава
n. Peroneus superficialis	Не се получава	Не се получава	Не се получава
n. Suralis	Не се получава	Не се получава	Не се получава
Моторни	CV (m/s)	A (mV)	DL (ms)
n. Medianus	36.1	0.69	4.42
n. Ulnaris	49.4	2.5	4.56
n. Peroneus	Не се получава	Не се получава	Не се получава
n. Tibialis	Не се получава	Не се получава	Не се получава



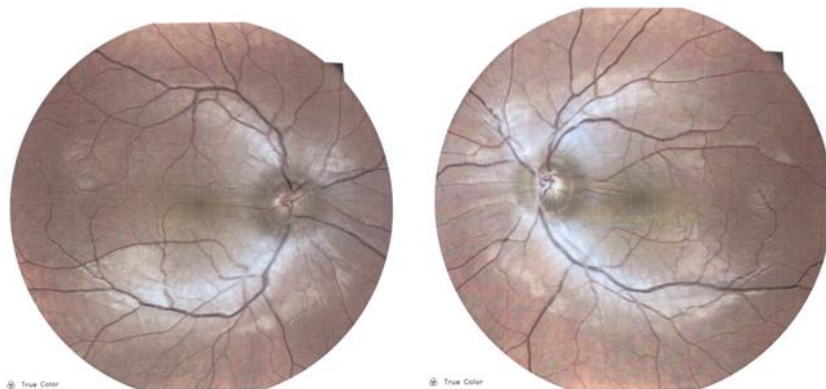
Фигура 24. Мускулна атрофия в дисталните части на крайници с двустранен pes cavus и equinovarus, палец чукче (А) и флексионни контрактури на интерфалангеалните стави на двете ръце, по-изразена за лявата (Б и В) при пациент №1.



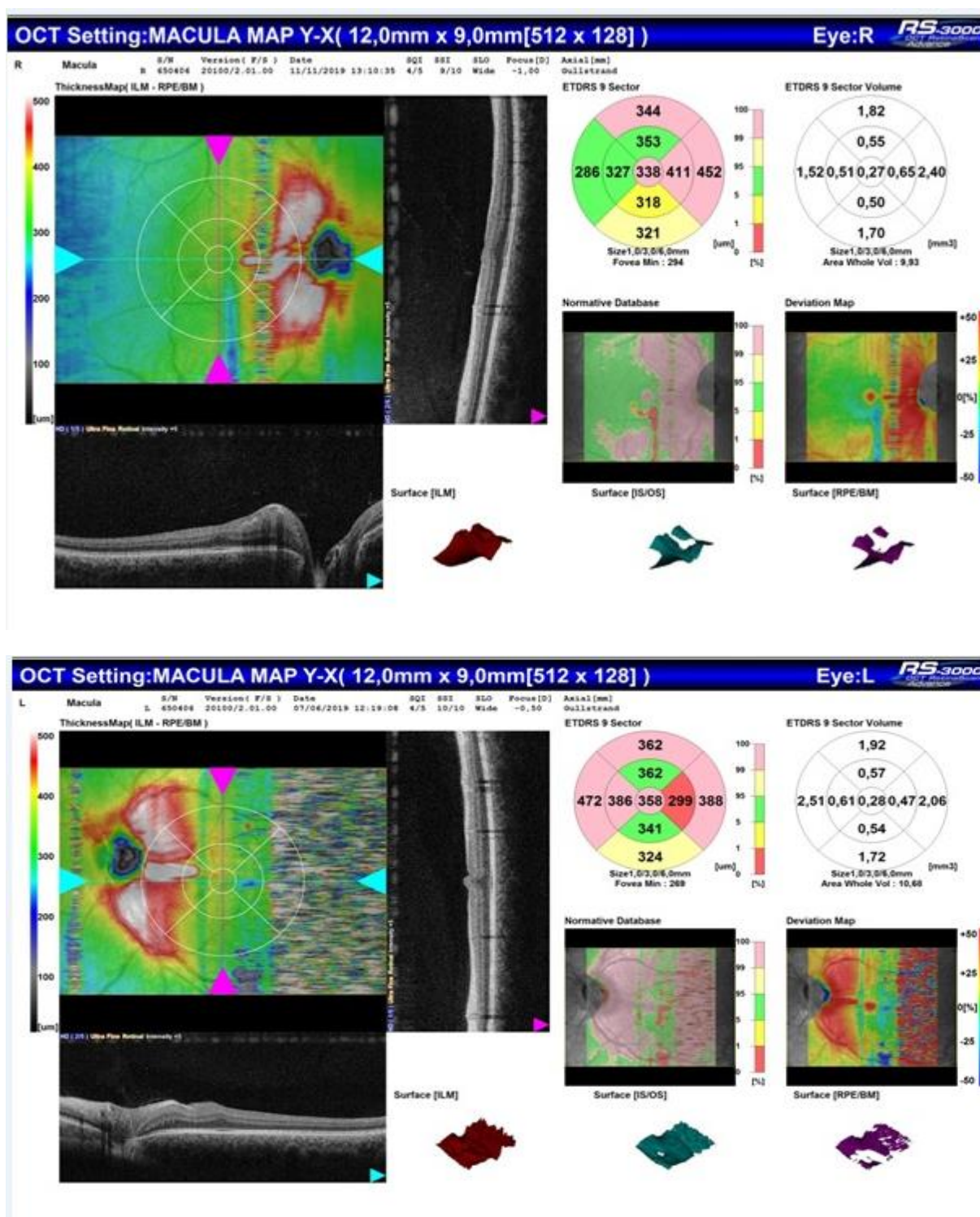


Фигура 25. МРТ на главен мозък при български пациент с ARSACS №1.

- А. Axial T2 с данни за малкомозъчна предимно вермисна атрофия.
- Б. Axial FLAIR с данни за понтинни хипоинтензни лезии и *cysterna magna per magna*
- В. Axial T2 с дифузна хиперинтензност в областта на латералния понс.
- Г. Изтъняване на средната част на тялото на *corpus callosum*.



Фигура 26. Очни дъна при пациент №1 с наличие на бели перипапиларни стриации.



Фигура 27. OCT при пациент №1 с ARSACS, при който липсва физиологични фовеолна депресия на двете очи и се установява задебеляване на перипапиларния ретинален нервен слой (RNFL) 196 µm за дясното око и 202 µm за лявото око (норма: 96–99 µm).

Обсъждане:

Въпреки че мутациите в SACS- гена са първоначално и основно описани сред канадски пациенти от Quebec (Bouchard JP и съавт. 1978; Synofzik M и съавт. 2013), в

последните години нараства броят на пациентите с ARSACS в целия свят (Baets J и съавт. 2010; Vermeer S и съавт. 2008; Kuchay RAN и съавт. 2019).

В България това са първите четирима болни със спастична атаксия на Charlevoix–Saguenay, носещи 5 нови мутации, нарушаващи рамката на четене и локализиращи в най-големия екзон 10 на SACS. Frameshift вариантите обхващат около 1/3 от всички мутации в гена (ClinVar) и е доказано, че водят до синтезата на нефункционален протеин.

Възрастта на начало варира в нашата група от кърмаческа до юношеска, като типичната клинична триада (атаксия, квадрипирамиден синдром и полиневропатия) е налице при трима от болните. При пациент 4 липсва типичното перифернонервно засягане, което до този момент е описано само при двама болни (Baets J и съавт. 2010; Synofzik M и съавт. 2013), с мутации, различни от типичните канадски.

При пациенти №2 и №3 пък са налице в допълнение редки епилептични пристъпи с добър ефект от терапия с валпроат. Епилептични пристъпи се описват при 9.3% от канадските пациенти с ARSACS, като тази честота е по-висока от средната популационна (Bouchard JP и съавт. 2000; Briand MM и съавт. 2019).

Невропатната болка и мускулните крампи в долните крайници, установени при пациент №1, се описват при голям процент от болните с ARSACS, респективно 23.3% (за болка) и 58.5% (мускулни крампи) (Bouchard JP и съавт. 2000; Briand MM и съавт. 2019). Тези прояви са в резултата от смесеният тип - демиелинизиращо-аксонна полиневропатия, типична за заболяването, но при нашия болен се проявяват късно, чак в четвъртото десетилетие (Bouchard JP и съавт. 1978; Synofzik M и съавт. 2013).

При всички болни са налице патогномоничните характеристики на МРТ на главен мозък- линейни хипоинтензни лезии на T2 в моста, дифузни хиперинтензни лезии в мястото на свързване на моста със средното малкомозъчно краче и атрофия на горната част на малкомозъчния вермис (Synofzik M и съавт. 2018; Gazulla J и съавт. 2012).

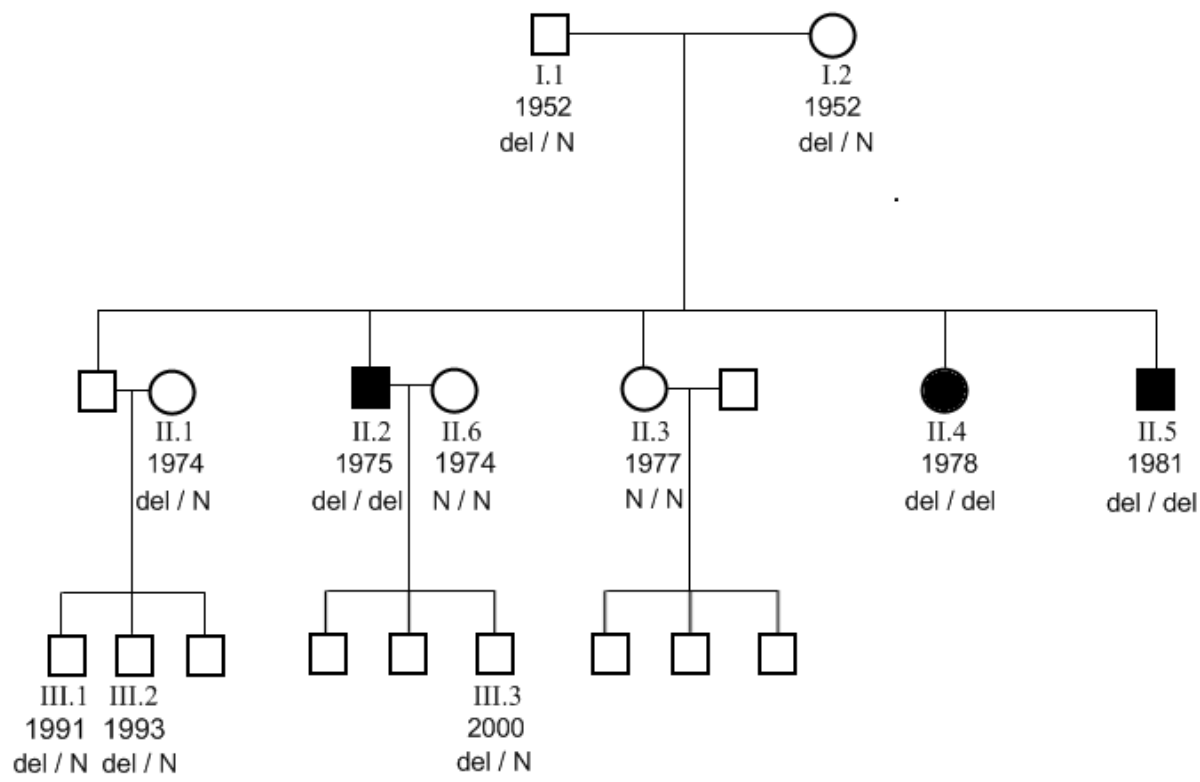
Когнитивно функциониране в рамките на лека умствена изостаналост/леко когнитивно нарушение е налице при 75% от болните, което е възможна проява при този синдром (Bagaria J и съавт. 2022).

Докато изтъняването на перипапиларния неврофибрилерен слой на ретината (RNFL) е типична находка при редица невродегенеративни заболявания (Parkinson MH и съавт. 2007), болестта на Charlevoix–Saguenay прави изключение от това правило. Задебеляването на RNFL, оценено чрез OCT, налично при 75% от български пациенти, се счита за важен биомаркер с чувствителност от 100% и специфичност от 99.4% (Kuchay RAN и съавт. 2019; Parkinson MH и съавт. 2007; Desserre J и съавт. 2011).

В заключение МРТ и OCT са важни биомаркети при диагнозата на болестта на Charlevoix–Saguenay, дори при липсата на някой от кардиналните симптоми от триадата.

3.2.9. Автозомно-рецесивна церебеларна атаксия тип 3 (ARCA3), всл. мутации в ANO10- гена

В България са диагностицирани трима болни роми, двама мъже и една жена, принадлежащи към едно родословие от групата на ромите кошничари (фигура 28).



Фигура 28. Родословие на българските пациенти с ARCA3, вкл. хомозиготна мутация p.Leu384fs в ANO10-гена. Само пациентите, участвали в изследването, са означени. Генотипите са означени като N/N (нормални хомозиготи), N/del (хетерозиготи) и del/del (хомозиготи за c.1150_1151 делеция, водеща до p.Leu384fs мутация в ANO10).

На таблица 13 се представени клиничните характеристики на българските пациенти с ARCA3.

Таблица 13. Клинични характеристики на българските пациенти с ARCA3.

Пациенти №	II.2	II.4	II.5
Дата на раждане	07.05.1975	13.10.1978	03.08.1981
Пол	М	Ж	М
Ранно ННР	Нормално	Нормално	Нормално
Възраст на начало (години)	Дизартрия- 6-7; Атаксия: 16	Дизартрия: 6-7; Атаксия 17	Дизартрия: 7; Атаксия: 17
Възраст на клинична оценка	35	32	29
Окуломоторика	Хоризонтален и вертикален нистагъм	Вертикален нистагъм надолу	Вертикален нистагъм надолу
Церебеларна дизартрия	Умерена	Умерена	Умерена
Дисметрия и дисдиадохокинезия в	Лека	Лека	Лека

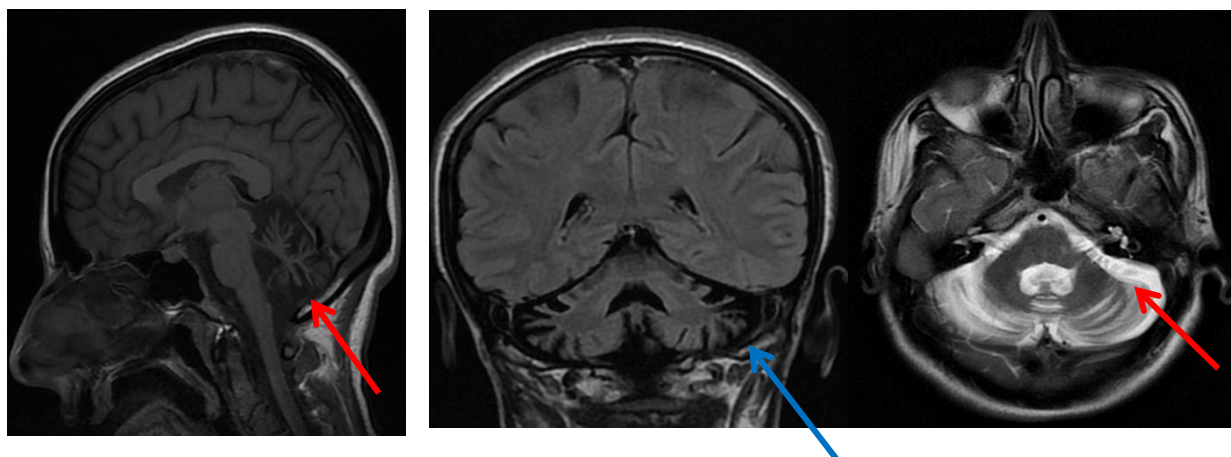
крайниците			
Локомоторна атаксия	Тежка	Умерена	Умерена
Статична атаксия	Лека	Лека	Лека
SARA	17/40	16/40	16/40
СР в горните крайници	Патологично оживени	Патологично оживени	Патологично оживени
Колени СР	Патологично оживени	Патологично оживени	Патологично оживени
Ахилови СР	Патологично оживени	Патологично оживени	Нормални
Патологични рефлексии от групата на Бабински	Не	Да	Не
ЕНГ	Не е проведено	В норма	В норма
ЕМГ	Не е проведено	Неврогенна увреда от m.quadriceps femoris	В норма
MPT на главен мозък	Не е проведено	Тежка церебеларна атрофия	Не е проведено
Интелектуален дефицит	След клиничната изява на атаксията	След клиничната изява на атаксията	След клиничната изява на атаксията
Ко-морбидности	Язва на стомаха	Сифилис, лекуван Benzylpenicillin	Не

Бременността, раждането и ранното психомоторно развитие са описани, като нормални и при тримата засегнати. Проходили са в периода 12-14 мес., като фразеологичната реч е постигната на около 18-месечна възраст. Пациенти №II.2 и №II.4 са посещавали училище за 4 г. и 2 г. респективно, докато №II.5 никога не е ходил на училище. Началото на клиничните прояви е от 6-7 годишна възраст, с промяна на говора, която бавно прогресирала във времето. Локомоторната атаксия се появила около 16-17 годишна възраст, като до 28-29 г.в. станала толкова изразена, че самостоятелната походка без помощно средство станала невъзможна. Обща забавеност и проблеми с паметта са установени от близките след промяната в походката. При тримата болни се установяват

- Дискоординационен синдром (по-изразен вермисен): умерена (при №II.4 и №II.5) до тежка статична и локомоторна атаксия (№II.2), проба на Ромберг- отрицателна, пол-лека динамична атаксия дисметрия и дисдиаходокинезия. Походка- атактична, на широка основа. Погледно-провокиран нистагъм надолу с хиперметрични сакади е налице при по-младите болни, докато при по-възрастният е налице и вертикален и хоризонтален нистагъм. Говорът е скандиран при всички.
- Квадрипирамиден синдром с двустранно оживени СР с разширени рефлексогенни зони, изчерпващи се клонуси на стъпалата, тенденция за поликинетични Ахилови рефлексии. Положителни патологични рефлексии на Хофман, Трьомнер, Росолимо и Жуковски двустранно са налице при пациент №II.4. и липсват при останалите.
- Когнитивен дефицит

ЕМГ изследването при пациент №II.4. е с данни за неврогенна увреда от *m.quadriceps femoris* с наличие на спонтанна активност от позитивни остри вълни, фибрилации и М-отговори с голяма продължителност и амплитуда. ЕНГ и ЕМГ на пациент II.5 е са в норма.

МРТ на главен мозък при пациент II.4 е с данни за тежка малкомозъчна атрофия и дифузни на T2/FLAIR хиперинтензни и T1 хипоинтензни лезии в малкомозъчните хемисфери при нормално изобразяване на супратенториалните структури (фигура 29).



Фигура 29. МРТ на главен мозък на пациент I.№I.4 с данни за тежка малкомозъчна атрофия (стрелка) при нормално изобразяване на супратенториалните структури. Налице са и дифузни хиперинтензни на T2 и хипоинтензни на T1 лезии в малкия мозък, съответстващи на глиоза (стрелка). А Sagittal T1, В Axial T2 PROPELLER, С Coronal T2 FLAIR

От невроофтальмологичното изследване при пациент №II.2. се установява двустранно макулна хипоплазия и извитост на ретиналните съдове.

Предвид ниския образователен ценз и езиковите особености резултатите от невропсихологичните тестове са сравнени с резултатите на техните близки и съответни по възраст и пол контроли от същата общност (таблица 14). При болните се установява умерен интелектуален дефицит със засягане на всички когнитивни сфери.

Те са доказани като хомозиготи с делеция *c.1150_1151del* в *ANO10*- гена. От останалите 7 члена на родословието, които са генетично изследвани, родителите и още четирима са носители- хетерозиготи за същата мутация (фигура 28).

Таблица 14. Невропсихологична оценка на болните с ARCA3, здравите им родственици и здравите контроли

Тестове	Пациенти			Здрави родственици		Здрави контроли N=9 Средни стойности (SD)*
	П.2	П.4	П.5	П.1	П.3	
Прогресивни матрици на Raven- точки	19/60	13/60	12/60	25/60	22/60	24.78 (6.0)
MMSE	21	19	21	27	26	24.56 (1.74)
Digit span						
Напред	2	1	2	6	7	5.56 (1.13)
Назад	2	2	1	7	7	3.89 (1.05)
Вербална флуентност						
Семантична- “животни”	5	4	4	10	12	10.11 (2.26)
Фонемна “М”	2	3	1	4	3	2.56 (1.13)
Тест за вербална памет						
Непосредствено припомняне	23/75	24/75	13/75	36/75	36/75	36.78 (6.10)
Отдалечено припомняне	2/15	3/15	3/15	7/15	8/15	9.89 (1.83)
Разпознаване	20/30	20/30	12/30	27/30	29/30	27.56 (1.67)
Tower of London						
Пълен брой движения- точки	51	65	61	35	42	46.89 (9.58)
Правилни движения	1	0	0	3	2	2.00 (1.41)

Анализирано чрез непараметричен тест на Mann-Whitney. Статистическият анализ е осъществен през SPSS версия 13.00.

Обсъждане: Това е второто семейство роми с ARCA3, обусловена от мутация с ефект на родоначалника p.Leu384fs в *ANO10* (Vermeer S и съавт. 2010; Mišković ND и съавт. 2016). Описаните с p.Leu384fs пациенти са със сравнително хомогенен фенотип, който е по-тежък от този на болните с други мутации (Vermeer S и съавт. 2010; Chamova T и съавт. 2012; Chamard L и съавт. 2016; Maruyama H и съавт. 2014; Renaud M и съавт. 2014; Yang SL и съавт. 2020), вероятно поради пълната липса на ANO10, всл. на безсмислената мутация. Нашите болни са с най-ранното начало в сравнение с описаните до момента. Друга характерна особеност е упадъкът на когнитивните функции, който е налице и при сръбското ромско семейство със същата мутация (Vermeer S и съавт. 2010). Невропсихологичната оценка потвърждава генерализиран дефицит, който прогресира във времето, предвид данните за нормално ранно невропсихично развитие. Този факт е още едно потвърждение на ролята на малкия мозък в когнитивните процеси (Bellebaum C и съавт. 2007; Laforce R Jr и съавт. 2010; Middleton FA и съавт. 1994). ANO10 е експресирани в мозъчната кора и hippocampus, но са необходими допълнителни изследвания за изясняване на точната му роля. Изразената малкомозъчна атрофия при съхранена структура на мозъчната кора е типична характеристика на мутациите в *ANO10*, докато нистагъмът надолу и засягането на периферния двигателен неврон не са задължителни симптоми (Vermeer S и съавт. 2010; Chamard L и съавт. 2016; Maruyama H и съавт. 2014; Renaud M и съавт. 2014; Yang SL и съавт. 2020).

3.2.10. SCAR13

Представяме 10 болни (4 жени и 6 мъже), принадлежащи към ромския етнос (групата на копанарите) с вродена атаксия SCAR13. Те са от 5 несвързани помежду си родословия. Клиничните характеристики на болните са представени на таблица 15.

Таблица 15. Клинични характеристики на болните със SCAR13.

Пациент №	Li 1	V III-2	V III-1	B IV-2	P II-2*	B IV-3	P II-1	P II-3	M II-2	M II-1
Възраст на изследване (г.)	6	8	10	26	27	32	37	42	47	57
Пол	Женски	Женски	Мъжки	Женски	Мъжки	Женски	Мъжки	Мъжки	Мъжки	Мъжки
Бременност и раждане	Няма данни	Нормални	Интранатал на асфиксия	Нормални	Белодробни ателектази	Нормални	Нормални	Нормални	Преди термин	Преди термин
Възраст на прохождение (г.)	4	4	5	Няма данни	Никога	1	Никога	Никога	3	Няма данни
Фразеологична реч (г.)	4	2	3	Няма данни	Никога	Няма данни	Никога	Никога	Никога	Никога
Ръст	120 cm	126 cm	137 cm	147 cm	138 cm	143 cm	151 cm	150 cm	154 cm	152 cm
Телесна маса	22 kg	40 kg	42 kg	42.5 kg	23 kg	42.5 kg	50 kg	60 kg	47.1 kg	45.1 kg
Малкомозъчна атаксия (SARA)										
Походка (0-8)	4	5	5	5	8	4	7	8	6	7
Стоеж (0-6)	2	4	4	4	6	2	6	6	5	6
Седеж (0-4)	0	1	1	0	4	0	3	3	1	2
Дизартрия (0-6)	2	2	2	2	6	2	6	6	6	6
Проследяване с пръст ((0-4)	1	1	2	1	Не е изследвано	1	1	1	2	1
Носопоказалечна проба (0-4)	1	1	2	1	Не е изследвано	1	1	2	1	0

Адиадохокинезия (0-4)	1	2	2	1	Не е изследвано	1	2	2	2	1
Колянно-стъпална проба (0-4)	1	2	2	2	Не е изследвано	1	2	3	2	2
Общ сбор SARA (0-40)	13	18	20	16	24/24	12	28	31	25	25
Окуломоторни прояви										
Погледнопровокиран нистагъм	Не	Не	Не	Да	Не	Yes	Да	Не	Не	Не
Хипометрични сакади	Не	Да	Не	Не	Да	Не	Да	Не	Не	Да
Абдукторен дефицит	Да	Не	Не	Да	Да	Не	Не	Да	Не	Не
Езотропия	Не	Да	Да	Да	Да	Не	Не	Да	Не	Да
Птоза	Не	Не	Не	Да	Не	Не	Не	Не	Да	Да
Допълнителни прояви										
Когнитивен дефицит	Лек	Лек	Лек	Умерен	Дълбок	Умерен	Умерен	Тежък	Тежък	Тежък
Хиперрефлексия	Да	Да	Да	Да	Не	Да	Да	Да	Да	Да
Спастицитет	Не	Не	Не	Не	Не	Не	Не	Да	Не	Не
Уринарна дисфункция	Не	Да	Да	Не	Да	Не	Не	Не	Не	Не

Полиневропатия	Не	Не	Не	Не	Лека	Не	Не	Няма данни	Няма данни	Няма данни
Епилептични пристъпи	Не	На 2 г.	На 5 мес.	Не	Едно абнормно ЕЕГ	Не	Не	Не	Не	Не

При всички болни е налице изоставане в НПП, трима болни никога не са проходили, а петима никога не са проговорили (таблица 15). От соматичния статус ръстът и телесната маса са в норма при трима пациенти (деца), но са под нормите за съответната възраст при възрастните болни.

При всички засегнати е налице умерено до тежко изразен дискоординационен синдром със средна стойност на SARA 11.9, като атаксията е по-изразена при по-възрастните болни. Лека дизартрия е налична при всички, които могат да говорят. Дисметрия, тремор и дисдиадохокинезия са установени при всички болни, но са в лека степен. Пирамидни прояви са леки с патологично оживени СР в долните крайници. Невроофтالمологичните прояви включват погледно-провокиран нистагъм, хипометрични сакади, дефицит на абдукцията, страбизъм и птоза. При всички болни е налице когнитивен дефицит, вариращ от лек до дълбок (таблица 15)

От невроизобразяващите изследвания (таблица 15, 16 и фигура 30) характерни особености са умерена до тежка малкомозъчна атрофия. Конституционално по-малка долна част на vermis се установява при 3 болни, малък обем на озъка при 5/7. Средното малкомозъчно крече, мозъчният ствол и гръбначният мозък са нормални.

Проследяването на невроизобразяващите изследвания при двама болни (таблица 17 и фигура 30) установява прогресия на атрофичните промени на малкия мозък.

Таблица 16. Характеристики на невроизобразяващите изследвания при българските пациенти със SCAR13.

Пациент №	Li 1	V 3-2*	V 3-1*	B 4-2	P 2-2	B 4-3	P 2-3
Възраст на изобразяване (г.)	6	6	11	24	27	32	37
Изследване	MPT	MPT	КТ	MPT	MPT	MPT	MPT
Протокол	T1 FLAIR Sagittal, T1 SPGR Coronal, T2 FSE Coronal, T2 FSE Axial	PD & T2 Axial (JPEG)	Volumetric axial - with orthogonal MPR	T1 Sagittal, T2 propeller Axial, T2 FLAIR Coronal, DWI (b=1000)	T1 MEMP Axial, T2 FSE Coronal, DWI (b=1000), T2* GRE Axial, T1 3D BRAVO with MPR's, T2 FSE Axial, T2 FSEIR Coronal, T2 FLAIR Coronal	Volumetric T1 multiplanar reformats (MPR) - coronal & sagittal	T1 MEMP Axial, T2 FSE Coronal, DWI (b=1000), T2* GRE Axial, T1 3D BRAVO with MPR's, T2 FSE Axial, T2 FSEIR Coronal, T2 FLAIR Coronal
Обща атрофия	Не	Не	Не	Не	Не	Не	Не
Малък обем на мозъка (оценка)	Не (0)	Не (0)	Лек (1)	Умерен (1)	Лек (1)	Лек (1)	Лек (1)
Вентрикулна система	Дилатиран четвърти вентрикул	Дилатиран четвърти вентрикул	Леко до умерено дилатирана	Дилатиран четвърти вентрикул	Не	Дилатиран четвърти вентрикул	Не
Селективна корова атрофия на хемисферите	Не	Не	Не	Не	Не	Не	Не

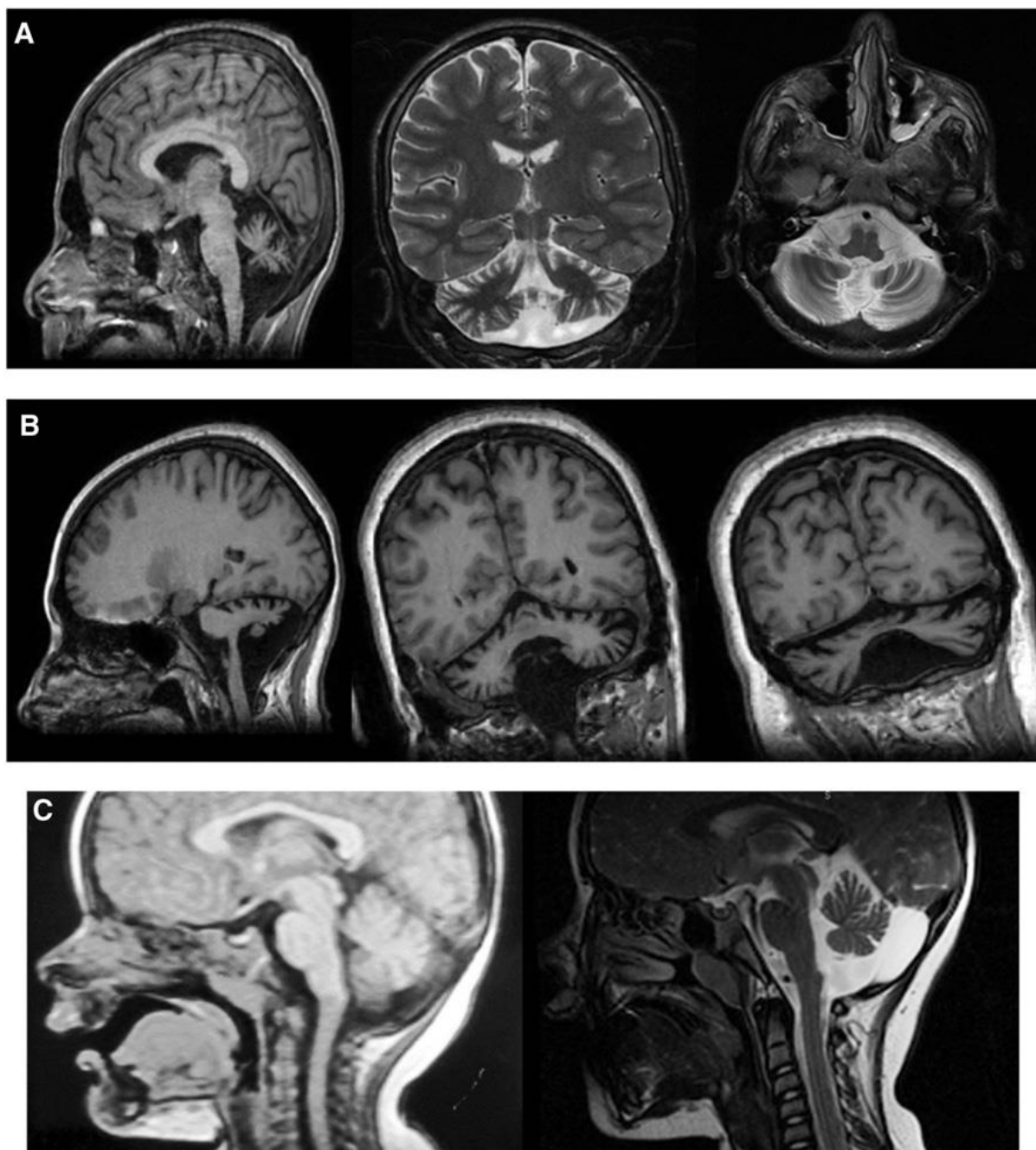
Селективна малкомозъчна атрофия (оценка)	Умерена генерализирана (2)	Умерена генерализирана (3)	Умерена генерализирана (2)	Лека за хемисферите (1)	Изразена генерализирана (3)	Изразена генерализирана (3)	Умерена генерализирана (2)
Малкомозъчна хипоплазия (оценка)	Не (0)	Не (0)	Долната част на vermis (1)	Не (0)	Долната част на vermis (1)	Долната част на vermis (1)	Не (0)
Размер на fossa posterior (оценка)	Нормален (0)	Нормален (0)	Малък (1)	Нормален (0)	Малък (1)	Нормален (0)	Нормален (0)
Ретроцеребеларна цистерна	Не	Да	Да	Не	Да	Да	Да
Средно малкомозъчно краче- размер (оценка)	Нормален (0)	Нормален (0)	Леко намален (1)	Нормален (0)	Нормален (0)	Нормален (0)	Нормален (0)
Размер и сигнална характеристика на мозъчния ствол	Нормални	Нормални	Нормални	Нормални	Нормални	Нормални	Нормални
Размери на hуросampus	Нормален	Нормален	Нормален	Нормален	Нормален	Нормален	Атрофия вдясно
Бяло мозъчно вещество	Нормално	Нормално	Нормално	Нормално	Нормално	Нормално	Нормално
Базални ганглии и таламус	Нормални	Нормални	Нормални	Нормални	Атрофия в задната част на putamen	Нормални	Нормални
Обща оценка от невроизобразяващите изследвания**	2	3	6	2	6	5	3
Обща оценка от SARA	13/40	18/40	20/40	16/40	18/18	12/40	22/34

*Лонгитудинално проследяване на невроизобразяващите изследвания при пациенти V3-2 и V3-1 са представени на таблица 17. **Оценките на отделните елементи са 0/1 (наличие/липса), с изключение на малкомозъчната атрофия 0/1/2/3, което съответства на липсваща/лека/умерена/тежка.

Таблица 17. Лонгитудинално проследяване на невроизобразяващите изследвания при пациенти №V 3-2 и V 3-1.

Пациент №	V 3-2						V 3-1				
Възраст (г.)	1	1 г. 8 мес.	3	6	9	9	5	5	8	8	11
Област	Глава	Глава	Глава	Глава	Глава	Торакален гръбнак	Глава	Глава	Глава	Лумбален гръбнак	Глава
Изследване	КТ	MPT	КТ	MPT	КТ	MPT	КТ	MPT	КТ	MPT	КТ
	Non volumetric axial - 8mm slices	T1 midline sagittal, PD & T2 Axial	Non volumetric axial - 5mm slices	PD & T2 Axial (JPEG)	Non volumetric axial - 3mm slices	T2 frFSE Sagittal, T1 FLAIR Sagittal, T2 STIR sagittal, 2D MERGE Axial	Non volumetric axial - 5mm slices	PD & T2 Axial	Non volumetric axial - 3mm slices	T1 FSE Sagittal, T2 IR - STIR Sagittal, 2D MERGE Axial, T1 FSE Axial, T2 FSE Coronal	Volumetric axial - with orthogonal MPR
Вентрикулна система	Не	Не	Дилатиран четвърти вентрикул	Дилатиран четвърти вентрикул	Дилатиран четвърти вентрикул	-	Леко дилатирана	Умерено дилатирана	Умерено дилатирана	-	Умерено дилатирана
Селективна малкомозъчна атрофия	Не	Не	Умерена генерализирана	Умерена генерализирана	Умерена генерализирана	-	Лека-умерена генерализирана	Умерена генерализирана	Умерена генерализирана	-	Умерена генерализирана
Малкомозъчна хипоплазия	Не	Не	Не	Не	Не	-	Долен vermis	Долен vermis	Долен vermis	-	Долен vermis
Размер на fossa posterior	Нормален	Нормален	Нормален	Нормален	Нормален	-	Малък	Малък	Малък	-	Малък
Ретроцеребеларна цистерна	Не	Не	Да	Да	Да	-	Да	Да	Да	-	Да
Средно малкомозъчно краче	Нормално	Нормално	Нормално	Нормално	Нормално	-	Леко намалено	Леко намалено	Леко намалено	-	Леко намалено
Сравнение			Нова церебеларна атрофия					Леко увеличение на размера на вентрикулите и церебеларната атрофия			

Гръбначен мозък						Нормален					Малка кухина	
-----------------	--	--	--	--	--	----------	--	--	--	--	-----------------	--

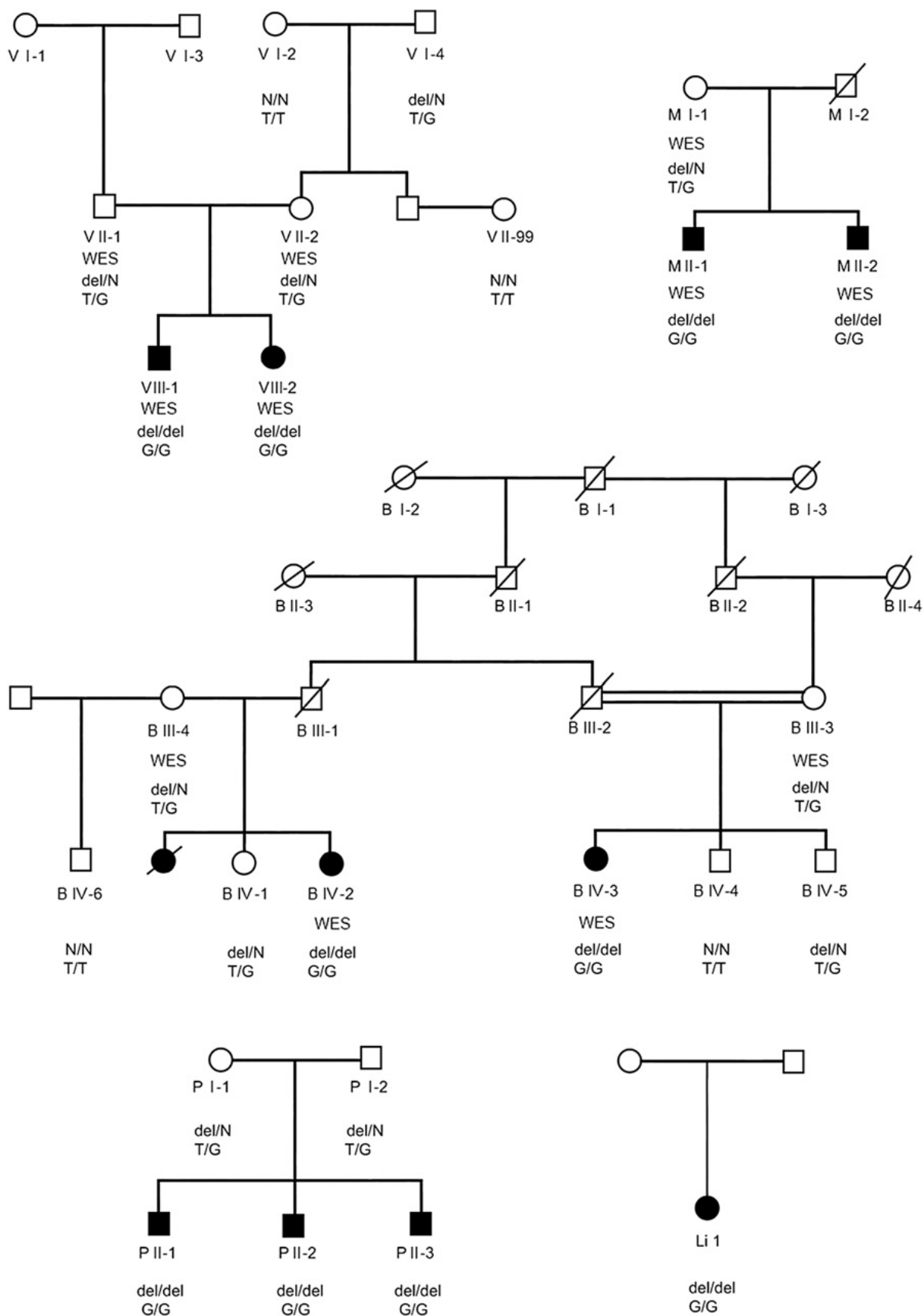


Фигура 30. Невроизобразяващи изследвания при пациентите с конгенитална атаксия.

(А) Генерализирана малкомозъчна атрофия и хипоплазия на долната част на vermis при пациент №II-2 (T1 3D brain volume [BRAVO], coronal T2, и axial T2).

(Б) Умерена до тежка церебеларна атрофия и хипоплазия на долната част на малкомозъчния vermis при пациент №V IV-3 (volumetric coronal and sagittal T1 MPR).

(В) Проследяване на МРТ в динамика при пациент №VIII-2 на 1 г. и 8 мес. (без данни за малкомозъчна атрофия), и малкомозъчна атрофия (T1 midline sagittal, T2 sagittal) на 6-годишна възраст.



Фигура 31. Родословия на българските пациенти със SCAR13, обусловена от мутации в *GRM1*-гена.

На базата на проведения WES се установяват два хомозиготни варианта в *GRM1*- гена, кодиращ метаботропен глутаматен рецептор 1 (mGluR1): c.2652_2654del и c.2660T>G (фигура 31). Преди това изследване мутации в този ген са свързвани с атаксия при животински модели, но липсваха съобщения за мутации при хора. Чрез секвениране по Sanger се доказва, че всички засегнати носят по две мутации в хомо- или двойно хетерозиготно състояние. При изследване на честотата на носителство сред 289 здрави контроли роми от различни групи, двама хетерозиготни носители са идентифицирани в групата на копанарите.

GRM1 кодира метаботропен глутаматен рецептор mGluR1, който има силна експресия в клетките на Purkinje и играе важна роля в малкомозъчното развитие и синаптичната пластичност.

Обсъждане: Клиничните характеристики на SCAR13 могат да се обобщят, като изоставане в НПП, начало в ранната детска възраст с умерена до тежка статична и локомоторна атаксия, дизартрия, лека дисдиадохокинезия и дисметрия, различен по тежест интелектуален дефицит и леки пирамидни белези. Невроизобразяващите изследвания са с данни за умерена до изразена малкомозъчна атрофия с или без хипоплазия на долната част на vermis без да има корелация между тежестта на атрофията и атаксията.

До описанието на нашата кохорта участието на mGluR1 в патогенезата на атаксията е описано при паранеопластични или автоимунни атаксии (Marignier R и съавт. 2010).

Впоследствие генотипният и фенотипният спектър се разширява, като Davarniya B. и съавт. описват трима ирански пациента на възраст 28, 37 и 40 г., при които към вече описаният фенотип се добавят епилептични пристъпи и агресивно поведение (Davarniya B и съавт. 2015), а Cabet S и съавт. 2019 описва момче на 6 г., при което допълнително са налице и екстрапирамидни хиперкинези (Cabete S и съавт. 2019).

GRM1 се добява към групата на гените, мутации, в които обуславят вродени атаксии. Описанието и на други случаи ще разшири и клиничния спектър в бъдеще.

3.2.11. Болест на Niemann Pick B (NPB)

В изследването са включени пет болни с доказана болест на Niemann Pick A/B, принадлежащи към ромския етнос. Клиничните им прояви са представени на таблица 18.

Началото на клиничните прояви са между 5 месеца и 3 г. с висцерални прояви: с хепато- и спленомегалия при всички, иктер при 1/5, пневмония при 3/5 и изоставане в психомоторното развитие при 2/5. Диагнозата е поставена в детската възраст при 3/5, а при останалите в зряла възраст.

Неврологично засягане е налице при 4/5: при 3/5 е налице статична и локомоторна атаксия, при 4/5 се установява когнитивен дефицит, като те функционират в рамките на граничен интелект или лека умствена изосталост. Квадрипирамиден синдром с оживени СР и патологични рефлексии от групата на Бабински се установява при 1/5, а полиневропатен синдром при 3/5.

Невроофтальмологичното изследване установява макулна хало, като „сребърно сив пръстен“ около кафяво-червената фовеола при всичките изследвани.

Психиатрични прояви се установяват при 4/5, двама са диагностицирани с параноидна шизофрения и са на невролептична терапия, а другите двама са с поведенчески нарушения с агресивни прояви и сексуална дизинхибиция.

При последната оценка всички пациенти са с клинични и ехографски данни за хепато-спленомегалия, като повишение на серумните трансминази (ASAT, ALAT) се установяват само при един от болните. При този болен е налице и намаление на тромбоцитите под референтните граници, като белег на хиперспленизъм. При трима от болните са налице анамнестични данни за чести пневмони, като при тях се установяват и инфилтративни и фиброзни промени от проведените рентгенографии на белите дробове.

ЕЕГ е абнормна при 1/5 болни, а МРТ данни за малкомозъчна атрофия се установява при 3/5. При 3/5 ЕНГ е с данни за аксонен тип на периферностволова увреда на сетивните влакна на четирите крайника.

При всички болни се установява хомозиготно носителство на (1177T>G), р. (W393G) в *SMPD1* гена.

Таблица 18. Клинични прояви при българските пациенти с NPA/B

Пациент	1	2	3	4	5
Възраст на начало (г.)	3	0.7	0.5	2	2
Възраст на поставяне на диагнозата (г.)	12	0.7	0.5	30	24
Възраст на последната оценка (г.)	12	29	26	30	39
Неврологични прояви					
Дискоординационен синдром	+	+	-	-	+
Квадрипирамиден синдром	-	-	-	-	+
Полиневропатен синдром	-	+	+	-	+
Когнитивен дефицит	+	+	+	-	+
Психиатрични прояви					
	Поведенчески нарушения	Параноидна шизофрения	Поведенчески нарушения	-	Параноидна шизофрения от 35-годишна възраст
Макулно хало	+	+	+	+	+
Висцерални прояви					
Хепато- и спленомегалия	+	+	+	+	+

Инфилтративни промени в белите дробове	-	+	+	-	+
МРТ на главен мозък	В норма	Данни за малкомозъчна атрофия	Несиметрична атрофия на малкомозъчните хемисфери, по-изразена вдясно с дилатация на ретроцеребеларното субарахноидно пространство-арахноидна киста.	В норма	Данни за мозъчна атрофия, по-изразена субтенториално.
ЕЕГ	ЕЕГ от алфа тип. Генерализирани бавни ритми при ХВ	В норма	В норма	В норма	В норма

Обсъждане:

На този етап интермедиерният тип на болестта на NPA/B в България е установена сред ромския етнос, като тя е обусловена от мутация с ефект на родоначалника W391G в *SMPDI* (Mihaylova V и съавт. 2007). От проведения скрининг сред роми хетерозиготното носителство на мутацията е 1.1%, като в някои от подгрупите достига до 4%. W391G в *SMPDI* за първи път се описва в ромски семейства в Сърбия (Sperl W и съавт. 1994; Ferlinz K и съавт. 1995), а впоследствие и други страни. Представените болни са с типичният фенотип на болест на Niemann–Pick A/B с варираща тежест на засягане на централната и периферната нервна система в рамките на дискоординационен, полиневропатен, квадрипирамиден синдроми и когнитивен дефицит, съчетани с хепато- и спленомегалия, което е съобщено от Mihaylova V и съавт. 2007 при първото описание на болните с тази мутация в България (Mihaylova V и съавт. 2007). Предвид хомогенността на генетичната основа се предполага, че вариациите могат да са резултат от действието на гени модификатори.

Дискоординационният синдром и малкомозъчната атрофия, установени при 3/5 от болните в нашата кохорта, са описани и преди при хора (Pavlu-Pereira H и съавт 2005; Mihaylova V и съавт. 2007), както и при миши модели (Hoginouchi K и съавт 1995), което подчертава голямата чувствителност на клетките на Purkinje към дефицита на кисела сфингомиелиназа. Когнитивното засягане и психичните прояви също са много типични, което налага своевременна диагностика и терапия.

3.2.12. Болест на Niemann Pick C (NPC)

В България до този момент са доказани 21 пациента с болест на Niemann Pick C, принадлежащи към 18 родословия. От женски пол са 11 засегнати, а от мъжки- 10. При 20 от тях диагнозата е поставена след генетично изследване, а при един болен чрез филипиново оцветяване на кожни фибробласти.

Средната възраст на начало в българската кохорта е 12.71+/-7.54 г., варираща между 1.5 и 30 г., докато средната възраст на поставяне на диагнозата е 16.98+/-9.91 г. Налице е забавяне с диагностицирането с 4.5 +/-4.90 с вариация между 0.5 и 23 г. от първоначалните клинични прояви. В хода на заболяването 4 от засегнатите са починали, всл. на аспирация на храна и асфиксия- 3 и аспирационна пневмония- 1, средно 13 г. +/-6.16 г. след началото на клиничните прояви.

Според клиничното си начало българските пациенти се класифицират в следните клинични форми:

- Ранна инфантилна форма- 1 пациент
- Късна инфантилна- 3 пациента
- Ювенилна- 9 пациента
- Форма с късно начало- 8 пациента

Генотипът и клиничните характеристики на българските пациенти с NPC са представени на таблица 19.

Таблица 19. Клинични прояви на българските пациенти с болест на Niemann Pick C.

Пациент номер	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Инициали	ЙПС	ЗГЯ	СНС	НАР	НАР	МИХ	ДИШ	ДСА	АИА	ЖВВ	ПСС	АСС	ПВЗ	ХЛИ	ИММ	ККР	ДНК	ПНВ	ДАК	КГГ	ХКИ	
Възраст на начало	1.5	2.5	4	6	7	8	9	11	9	10	11	11	11	15	15	16	20	19	27	30	24	
Възраст на поставяне на диагнозата	2.5	9	5	6	9	8	9.5	21	9.5	14	13	16	34	16	19	19	23	21	34	36	32	
Пол	Ж	М	М	Ж	Ж	Ж	Ж	М	М	М	Ж	Ж	М	М	Ж	Ж	Ж	М	Ж	М	М	
Мутация в алел 1 на NPC1	c.551G>=A	p.Asn169Ple	p.Asn916del	p.Asn169Ple	p.Asn169Ple	p.(Pro1007Ala)	p.Asn169Ple	p.As1005Val	p.Asn169Ple	p.Asn169Ple	p.Pro1007Ala	p.Pro1007Ala	Cys184Tyr	p.Ala764Val	Asn916del	p.Asn169Ple	p.Pro474Leu	p.Ile409Thr	p.Ser954Leu	p.Ser954Leu		
Мутация в алел 2 на NPC1	c.1070C>=A	p.Ser940Leu	p.Pro1007Ala	p.Ser940Leu	p.Ser940Leu	p.(Gln716*)	p.Ser940Leu	p.Ser954Leu	p.Ser940Leu	p.Asn169Ple	p.Gly1240Arg	p.Gly1240Arg	p.Ser954Leu	p.Ser940Leu	Ser954Leu	p.Asn169Ple	p.Gly992Arg	p.Ser954Leu	p.Ile1061Thr	p.Asn1101Lys		
Клинични прояви																						
Неврологични прояви:																						
Вертикална погледна пареза	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	
Лимитация на хоризонталните верзионни очни движения	не	не	не	не	не	не	не	да	не	не	не	не	не	не	не	не	не	не	не	не	да	
Дискоординационен синдром със статична, локомоторна и динамична атаксия	да	не	не	да	не	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	не	да
Дистонни хиперкинези	не	не	не	не	не	не	не	да	не	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	не	да	да
Квадрипирамиден синдром	да	да	да	не	да	не	не	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да	да
Катаплексия	не	не	да	не	да	не	не	да	не	не	да	да	не	не	не	не	не	не	не	не	не	не
Епилептични пристъпи	да	да	да	не	да	не	не	да	да	не	не	не	да	не	не	не	не	не	не	не	не	не
Антиепилептична терапия	да	да	да	не	да	не	не	да	да	не	не	не	да	не	не	не	не	не	не	не	не	не
Когнитивен дефицит	Тежка умствена изостаналост	Умерена умствена изостаналост	Лека умствена изостаналост	Лека умствена изостаналост	Тежка умствена изостаналост	Нормален интелект	Лека умствена изостаналост	Лек деменгелен синдром	Умерена умствена изостаналост	Лека умствена изостаналост	Лека умствена изостаналост	Лека умствена изостаналост	Лек деменгелен синдром	Лека умствена изостаналост	Леко когнитивно нарушение	Леко когнитивно нарушение	Умерен деменгелен синдром	Лек деменгелен синдром	Леко когнитивно нарушение	Леко когнитивно нарушение	Умерен деменгелен синдром	
Дисфагия	да	да	не	да	не	не	не	да	да	не	да	да	да	не	не	не	да	не	не	не	да	
Невросензорно намаление на слуха	не	не	не	да	да	не	не	да	да	не	да	да	да	да	не	не	да	да	да	да	не	
Перифернонервно засягане	не	не	не	да	да	не	не	не	не	да	не	не	не	не	не	не	не	да	не	да	не	
Психични прояви	не	не	не	не	не	не	не	да	да	да	не	не	не	да	да	не	не	не	да	не	да	
Висцерални прояви																						
Хепатомегалия	да	да	да	да	да	да	не	не	да	не	да	да	да	не	не	не	не	не	не	не	да	
Спленомегалия	да	да	да	да	да	да	не	да	да	да	да	да	да	не	да	не	да	да	не	да	да	

Неврологичните прояви са начален симптом при 16 от болните. Атаксия и тремор на тялото и главата са били първите прояви при 13/16 от засегнатите, като при останалите са наблюдавани дистонни неволеви движения при 2/16 и епилептични (атонични, катаплектични пристъпи) при 2/16.

При четирима от пациентите с NPC в началото са наблюдавани психични и поведенчески нарушения. Един от тези пациенти (№21) е диагностициран със шизофренно разстройство и лекуван с невролептици в продължение на 10 г. При друга болна (№15) са установени: псевдохалюцинации, емоционална нивелираност, дисморфофобни преживявания. При останалите двама са били налице агресивни прояви и когнитивен дефицит с лоша успеваемост в училище (№8 и №9).

При пациентката с ранна инфантилна форма (№1) началото е с хепатоспленомегалия и повишени стойности на трансaminaзите.

Към момента на поставяне на диагнозата в българската кохорта се установяват следните клинични прояви (таблица 18, фигура 32):

Неврологични прояви:

Вертикална погледна парализа се установява при всички болни от българската кохорта, а и на хоризонталните е налице при 2/21, при които диагнозата е поставена респ. 10 и 23 г. след клиничната начало.

Дискоординационен синдром с преобладаващи статична и локомоторна атаксия и по-леко изразена динамична атаксия се установява при 17/21 (80%).

Дистонните хиперкинези се локализируют предимно в горните крайници и в по-лека степен в долните крайници и лицето. Те са налице при 12/21 (57%) от пациентите, предимно при тези с ювенилна (5/9) и късна (7/8) форма на заболяването.

Квадрипирамиден синдром с патологично оживени сухожилни рефлексии и патологични рефлексии от групата на Babinski се установява при 18/21, като при най-малката болна с ранна инфетнилна форма е налице спастична квадрипареза, а при пациент №17 се установява десностранна централна хемипареза след преживян Herpes simplex енцефалит в неонаталния период.

Данни за катаплектични пристъпи са налице при 5/21 (23%), предимно при тези с късна инфантилна и ювенилна форма. Катаплексия не е наблюдавана при пациентите с късна форма от нашата кохорта. Епилептичните пристъпи са с характер на ГТКП и се установяват при 7/21 (33%) болни с начало в детската и юношеската възраст. ЕЕГ обаче е абнормна при 18/21 (85%) и варират от неспецифични промени със забавена основна активност и преобладаване на делта и тета ритмите до оформена фокална активност от отстрие бавна вълна с различна локализация (фронтална и темпорална) и вторична генерализация. Антиепилептична терапия се прилага при седемте пациента с епилептични пристъпи, като при 4/7 е политерапия, но при всички болни предвид чернодробното зязагени е включен Levetiracetam.

Когнитивен дефицит в различна степен се установява при 20/21 от болните към момента на диагнозата. При 13 от тях диагнозата е поставена преди 18-годишна възраст, като тежка умствена изостаналост е налице при 2/13, умерена при 2/13, лека умствена изостаналост при 8/13 и нормален интелект при 1/13. При останалите 8 умерен дементен синдром при 1/8; лек дементен синдром при 3/8 и леко когнитивно

нарушение при 4/8 с изразено ангажиране на екзекутивните функции и вниманието и в по-лека степен вербалната памет.

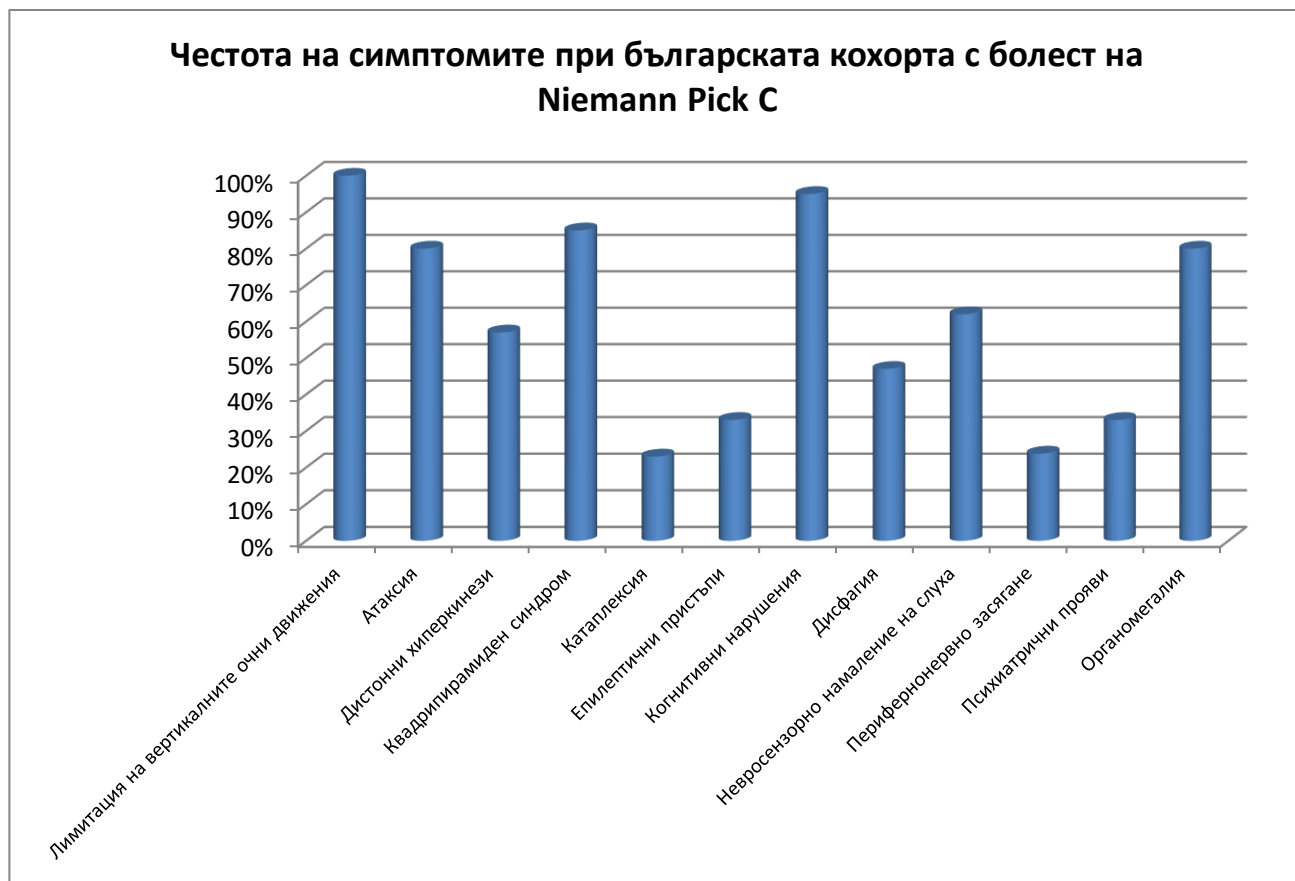
Дисфагия, всл. на комбиниран булбарен и псевдобулбарен синдром се установява при 10/21, предимно при тези с ранно начало или голяма давност на заболяването. Гълтателните нарушения са и причина за летален изход при 4 от болните, починали всл. на задавяне- 3, (№8, №11 и №13) и аспирационна пневмония- 1 (№21).

Невросензорно намаление на слуха се установява при 13/21 от болните, като при пациент №18 то е наложило слухопротезиране.

Периферностволова увреда на сетивните влакна на долните крайници с намалени А на СНАП на п. *peroneus superficialis* и п. *suralis* са налице при 5/21.

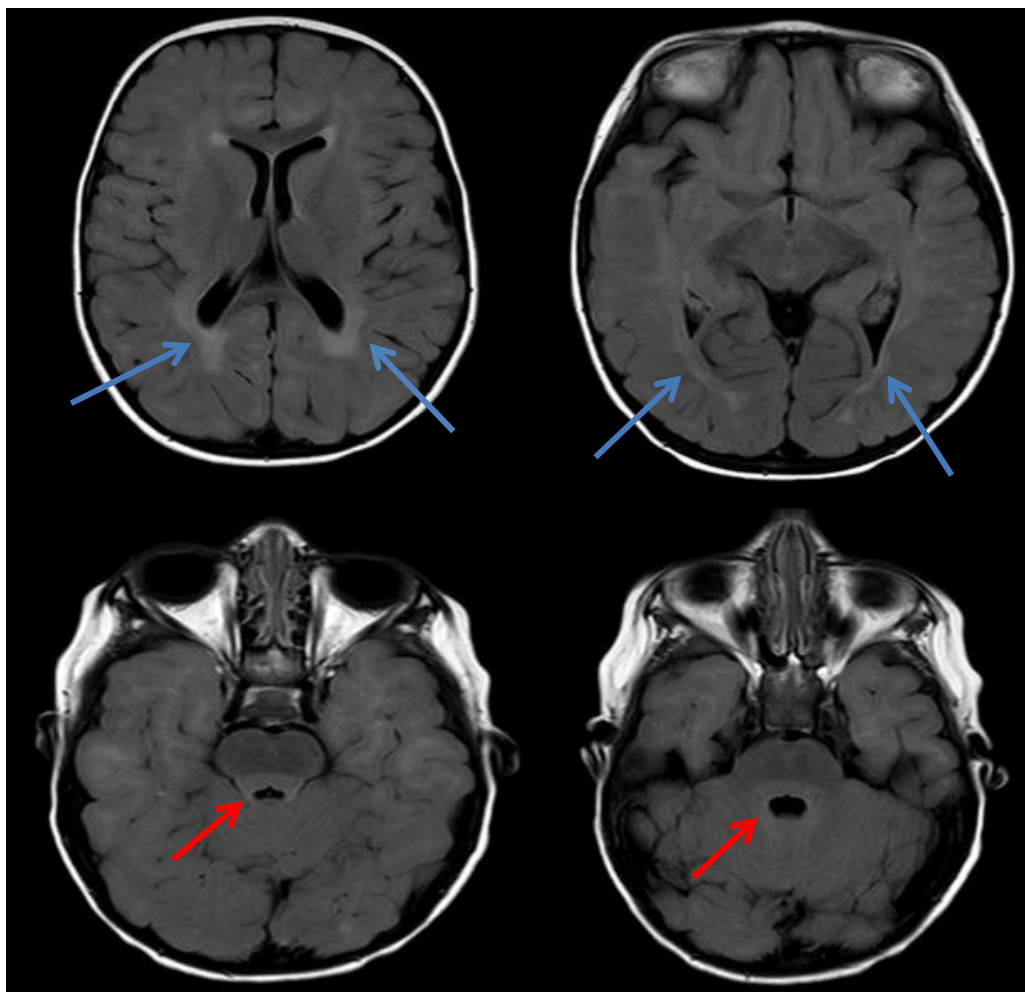
Психични прояви се установяват при 7/21 болни. При четирима те са начални прояви, а при 3 се развиват в рамките на прогресията на заболяването. При пациент №21 зрителните и слухови халюцинации, наложили терапия с невролептици без особен ефект са първи изяви. При пациент №14 1 г. след поставяне на диагнозата и започване на терапията се появяват зрителни халюцинации, овладяни за 6 мес. с невролептична терапия. При пациент №15 са установени: псевдохалюцинации, емоционална нивелираност, дисморфобни преживявания. А останалите 4 болни са с агресивни прояви и поведенчески нарушения.

Висцерални прояви в рамките на органомегалия са налице при 17/21, като при пациент #1, при която хепатоспленомегалията и повишените трансаминази са начална проява на заболяването, са налице и анамнестични данни за пролонгиран неонатален иктер. На 2- годишна възраст при нея вече е установена чернодробна цироза. Комбинирана хепато- и спленомегалия е налице при 9/21, докато при 7 увеличен размер има само слезката. Изолирана хепатомегалия се наблюдава само при един от пациентите. Висцералното засягане е почти задължителна проява при пациентите с начало в детската възраст.

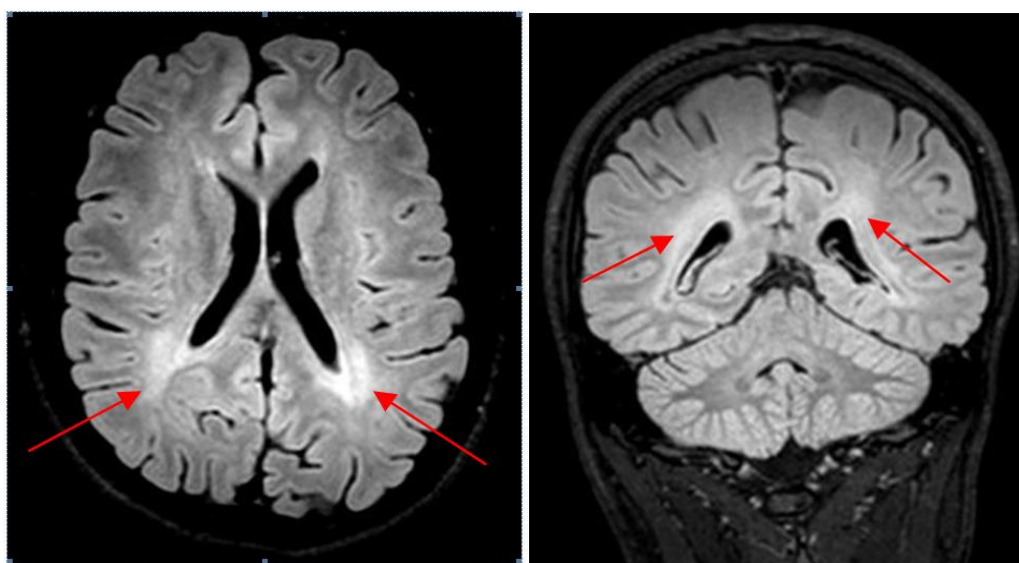


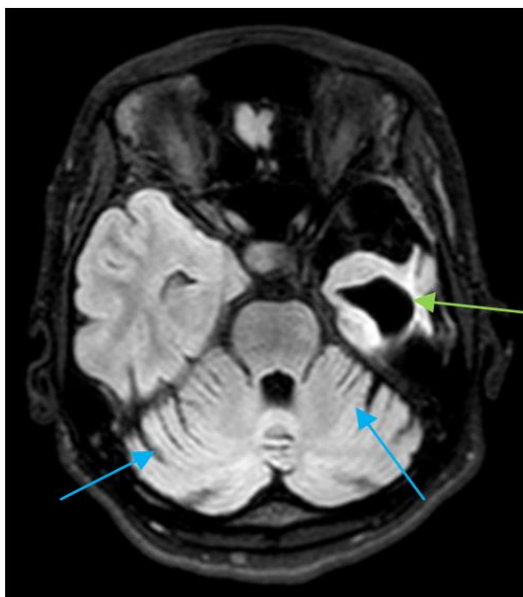
Фигура 32. Процентно съотношение на неврологичните, психични и висцерални прояви при българските пациенти с NPC.

Невроизобразяващите изследвания са абнормни при 16/21 пациенти (фигури 33, 34). Мозъчна атрофия, по-изразена за фронталните дялове с дилатация на латералните вентрикули е налице при 6/21. Малкомозъчна атрофия се установява при 5 пациента. Хиперинтензни лезии, вариращи от малки единични до изразени двустранно конфлуирани се установяват при 12 болни. При пациент №17 е налице и атрофия на лявата хемисфера след преживян менингоенцефалит в неонаталния период.



Фигура 33. Axial FLAIR на пациент №1 с данни за перивентрикулни конфлуиращи лезии в бялото мозъчно вещество супратенториално (стрелки) и в областта на мозъчния ствол (стрелки).





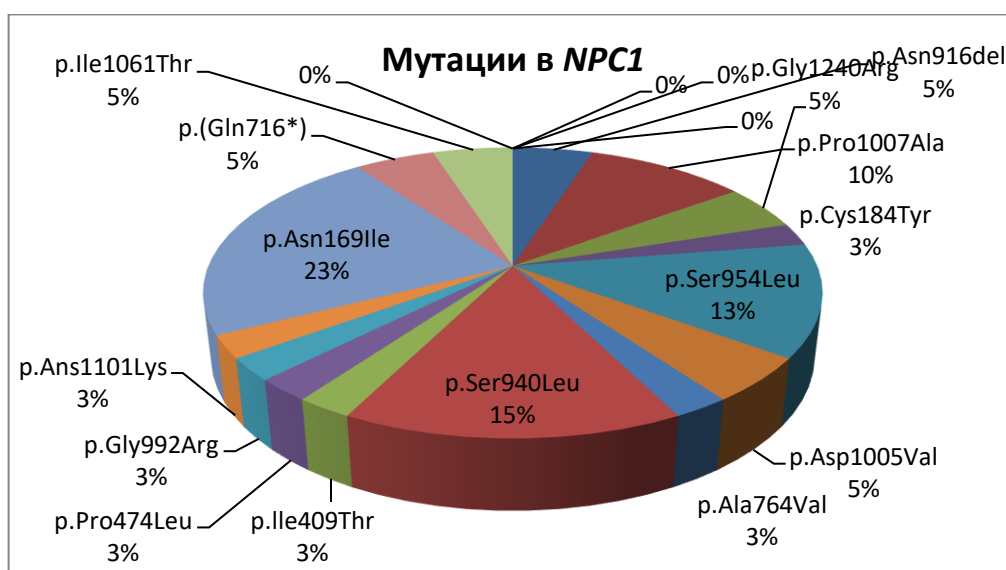
Фигура 34. МРТ на главен мозък при български пациенти с болест на Niemann Pick C.

А. Axial FLAIR на пациент №14 на 16-годишна възраст с данни за двустранни конфлуиращи лезии в областта на окципиталното бяло мозъчно вещество (стрелки).

Б. Coronal FLAIR на пациент №14 на 16-годишна възраст с данни за двустранни конфлуиращи лезии в областта на окципиталното бяло мозъчно вещество (стрелки).

В. Axial FLAIR на пациент №17, на 23-годишна възраст с данни за малкомозъчна атрофия (стрелка) и атрофия на лявата хемисфера след Herpes simplex енцефалит (стрелка).

При пациентите е налице изразена генетична вариабилност по отношение на мутациите, които са локализирани в *NPC1*-гена, като не са установени да този момент мутации в *NPC2* гена (фигура 35).



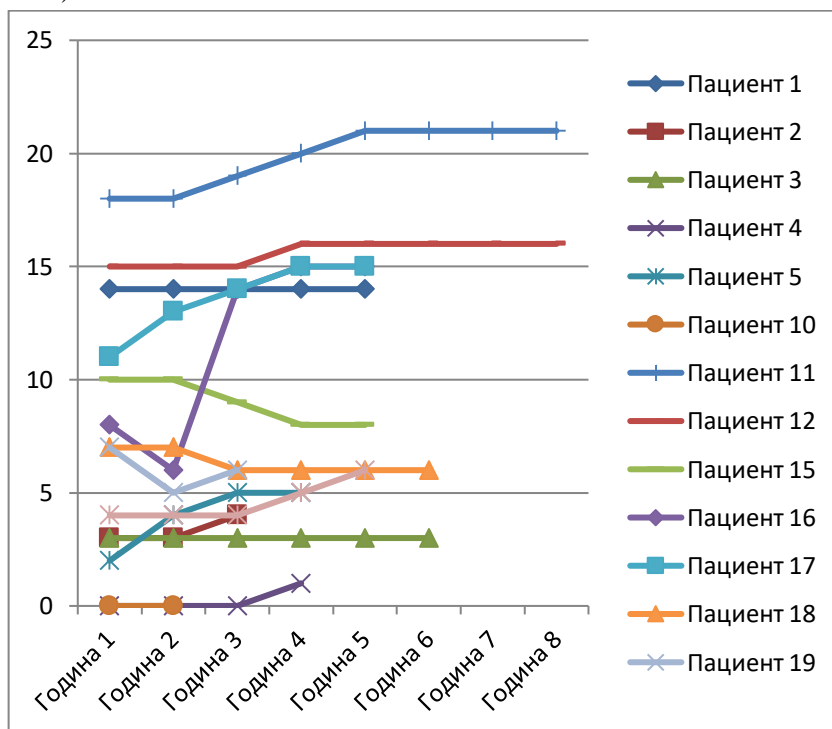
Фигура 35. Процентно съотношение на мутациите в *NPC1*-гена при българската кохорта с Niemann Pick C.

p.Asn169Ile е най-честата мутация, установена в 23% от мутиралите алели. Тя се среща само при пациенти от ромския етнос, като е възможно да е с ефект на родоначалника. В хомозиготно състояние води до форма с начало в юношеска възраст.

Втората по честота мутация е p.Ser940Leu, съставляваща 15% от мутантните алели, като тя е установена при пациенти-роми и при един български пациент в състояние на двойно хетерозиготно носителство. На останалите мутации се падат 2.5-12.5% от мутантните алели, което още веднъж потвърждава голямата генетична хетерогенност в нашата група болни.

Седемнадесет диагностицираните болни с NPC се лекуват на патогенетичната субстрат-редуцираща терапия Miglustat, като 15 болни се проследяват в Експертния център за наследствени неврологични и метаболитни заболявания, УМБАЛ „Александровска“. При 14 от тези болни лечението е продължило повече от 1 г., като са оценени прогресията на заболяването чрез скалата за атаксия SARA и честотата на нежеланите лекарствени реакции (таблица 19).

На таблица 20 са представени клиничните характеристики на пациентите на терапия с Miglustat, като се установява стабилизиранена състоянието при 5/14, подобрене при 4/14 и лека прогресия при 5/14. Прогресията е налице при болните, които са диагностицирани по-късно и респективно по-късно са започнали лечение (фигура 36).



Фигура 36. Проследяване на ефекта на терапията с Miglustat по отношение на атаксията, оценена чрез SARA.

Таблица 20. Резултати от лечението на 14 от пациентите с NPC с Miglustat по отношение на атаксията, оценена чрез SARA.

Пациент N	1/ИПС	2/ЗГЯ	3/СНС	4/НАР	5/НАР	10/ЖВВ	11/ПСС	12/АСС	15/ХЛИ	16/ИММ	17/ДНК	18/ПНВ	19/ДАК	20/КГГ
Възраст на начало	1.5 г.	2.5 г.	4 г	6 г	7 г	10	11 г	11 г	15 г	15 г	20 г	19 г	27 г	30 г
Възраст на диагноза	2.5 г.	9 г	5 г	6 г	9 г	14	13 г	16 г	16 г	19 г	23 г	21 г	34 у	36 г
Пол	Ж	М	М	Ж	Ж	М	Ж	Ж	М	Ж	Ж	М	Ж	М
Възраст на започване на терапията с Miglustat	2 г, 7 мес.	9 г	5 г	6 г	9 г	14 г.	15 г	18 г	16 г	19 г	23 г	21 г	34 г	36 г
Продължителност на терапията	5 г	2 г	6 г	4 г	4 г	2 мес.	8 г	8 г	6 г	2 г	6 г	6 г	2.5 г	6 г
SARA 1	14	3	3	0	2	10	18	15	10	8	11	7	7	4
SARA 2	14	3	3	0	5		21	16	8	6	15	6	5	5

Обсъждане:

NPC е фатално невровисцерално лизозомно заболяване с широк клиничен спектър от бързо прогресиращи фатални форми с начало в неонаталния период и ранната детска възраст до бавно прогресиращи късни форми с прогресираща неврологична и психиатрична симптоматика (Vanier MT 2010).

Настоящото проучване има за цел да представи генотипните и фенотипните характеристики на диагностицираните до този момент в България 21 болни с това лизозомно заболяване.

Болестността в България се изчислява на 0.3 случая на 100 000, която е малко по-ниска с установените до момента 0.35-2.2/100 000 в различните страни (Burton BK и съавт. 2021; Labrecque M и съавт. 2021). Епидемиологични проучвания, провеждани в различни страни, установяват следните данни за болестността 0.47/100 000 за Австралия, 0.91/100 000 за Чехия, 2.2/100 000 за Северна Португалия, 0.35/100 000 за Холандия, 0.82/100 000 за Франция и 0.78/100 000 за Великобритания (Labrecque M и съавт. 2021). Вероятно по-ниската болестност у нас е резултат от недостатъчната осведоменост за заболяването, широкия фенотип и късно поставената диагноза.

Според данните от международния регистър за NPC на формите с начало в детската възраст се падат около 2/3 от случаите в световен мащаб (Vanier M 2010)., в българската кохорта, обаче 81% от пациентите са с начало в юношеска или зряла възраст. Възможни обяснения на тези различия са специфичните мутации, наблюдавани в нашата популация. От друга страна късната форма е с преобладаваща психиатрична симптоматика и е възможна реалната заболяемост да е по-висока от съобщената до момента (Wassif SA и съавт. 2016).

Клиничният фенотип е изключително хетерогенен, дори сред пациенти, носещи едни и същи мутации в рамките на едно и семейство и монозиготни близнаци (Vanier M 2010; Venussi A и съавт. 2015; Walterfang M и съавт. 2009). Неврологичните, психичните и висцералните прояви могат да се появят във всяка възраст, както се установява и в българската кохорта, където водещите начални прояви са неврологични. Въпреки вариабилното засягане на централните нервна система типични особености, като вертикалната погледна пареза, атаксия, дизартрия, когнитивен дефицит и пирамидни прояви са били налични при голяма част от пациентите с различна степен на тежест в началото на заболяването. Вертикалната погледна пареза, считана за основен белег на заболяването (Vanier M 2010), се установява при 100% от болните. Интересно е, че при 4 болни тя предшества появата на атаксията, което не е типично.

Аналогично на други проучвания и в нашата кохорта епилептичните пристъпи и катаплексията са по-типични при детските форми на болестта, докато дистониите и психичните прояви при юношеските и късните форми (Vanier M 2010; Yanjanin NM и съавт. 2010; Mengel E и съавт. 2013). Невросензорното намаление на слуха се установява при 61% от българските пациенти, което е по-често в сравнение с различни съобщения (Yanjanin NM и съавт. 2010; Mengel E и съавт. 2013). Известно е, че холестеролът играе важна роля във физиологията на слуховия анализатор (Purcell EK и съавт. 2011), така че нарушеният му транспорт вероятно нарушава процесите на звукоприемане и предаване при по-дълъг ход на заболяването при пациентите с

ювенилни и късни форми на болестта. Тази клинична особеност е важна, защото е известно, че и Miglustat също води до намаление на слуха.

МРТ на главният мозък при българската кохорта установява мозъчна и малкомозъчна атрофия в съчетание с хиперинтензни лезии в бялото мозъчно вещество от единични малки до конфлуиращи с ангажиране и стволите структури, което е типично за заболяването (Walterfang M и съавт. 2009; Huang JY и съавт. 2011). МРТ на главния мозък е важен метод при пациентите с атаксия, епилепсия и деменция, но не е специфична при NPC.

Висцералното засягане е симптоматично само при един болен с ранно инфантилно начало, докато при 4/21 с начало в юношеска и зряла възраст органомегалия изобщо липсва, което е в съответствие с описанията на други автори (Vanier M 2010).

Генотипът на българските пациенти с NPC е много разнообразен, като при 20 пациента са установени 15 мутации. p.Asn169Ile е най-честата мутация, установена в 23% от мутиралите алели. Тя се среща само при пациенти от ромския етнос, като е възможно да е с ефект на родоначалника. В хомозиготно състояние води до подоброкачествена форма. Втората по честота мутация е p.Ser940Leu, съставляваща 15% от мутантните алели, като тя е установена при пациенти от различни етнически групи. На останалите мутации се падат 2.5-12.5% от мутантните алели, което още веднъж потвърждава голямата генетична хетерогенност в нашата група болни.

Забавянето в поставянето на диагнозата в нашата кохорта е 4.5 +/-4.90, като то е по-голямо при късните форми (1-23 г.), вероятно обусловено от по-широката диференциална диагноза и бавния клиничен ход. Ранната диагноза е от особена важност и поради терапевтичните възможности, които са по-ефективни при своевременното ѝ започване. Miglustat дава възможност за стабилизиране и/или забавяне на прогресията на атаксията (Wraith JE и съавт. 2010; Vanier MT и съавт. 2015; Patterson MC и съавт. 2012), което се доказва и при проследяване на българските болни.

3.2.13. Тремор-атаксия с централна хипомиелинизация (Хипомиелинизираща левкодистрофия 7- HLD7)

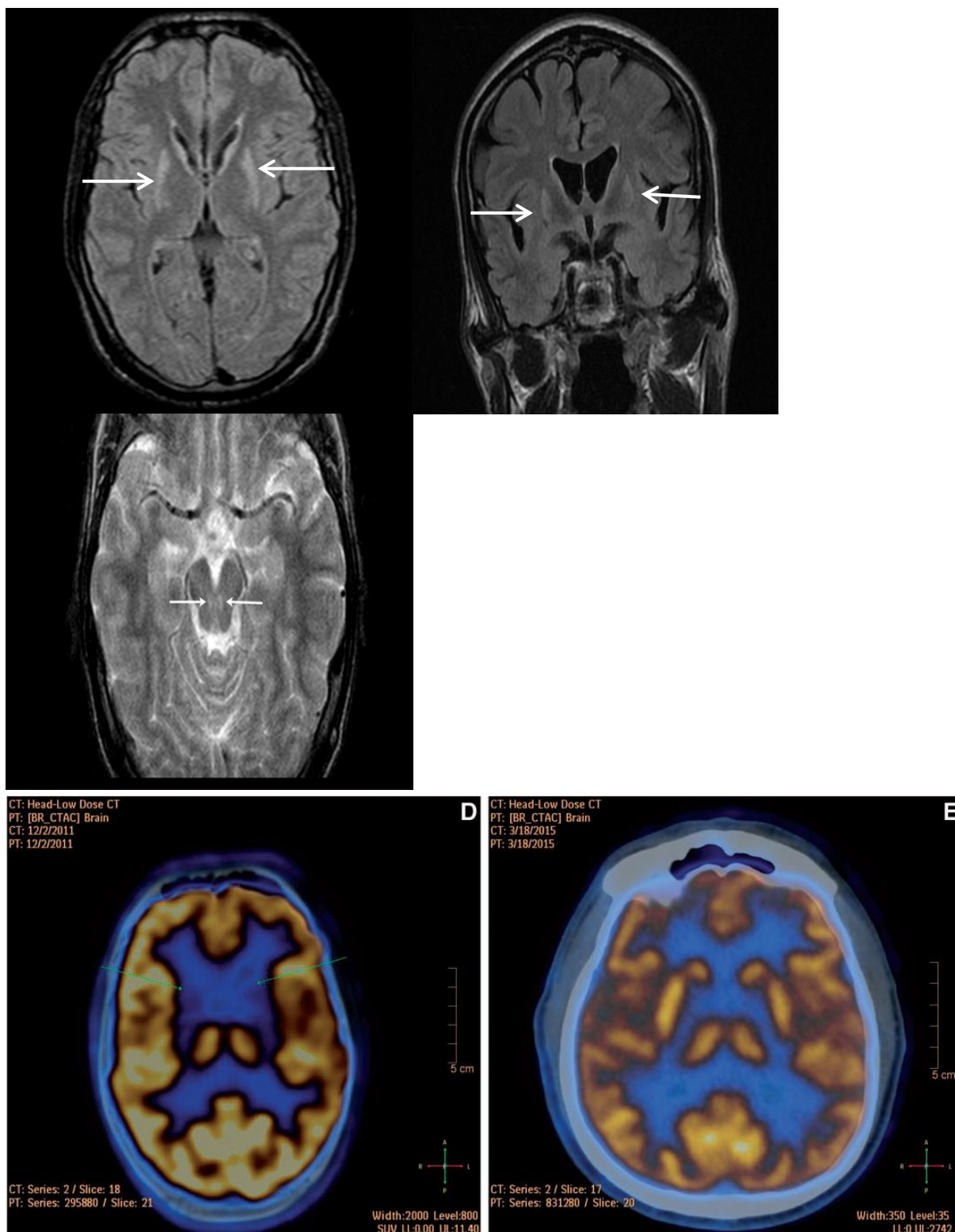
С този синдром, обусловен от мутации в *POLR3A*-гена в България са диагностицирани трима болни от мъжки пол, принадлежащи към 2 несвързани ромски семейства от групата на копанарите.

Пациентите са родени от нормално протекли бременности и раждания. Били са с нормално психомоторно развитие, като всички имат основно образование. Клиничните им характеристики са обобщени на таблица 21.

Таблица 21. Клинични характеристики на българските пациенти с мутации в *POLR3A*-гена

Пациент №	ShII-1	IzII-1	IzII-2
Година на раждане	1959	1985	1989
Пол	М	М	М
Възраст на начало (г.)	8	7	8
Възраст на клинична	52	27	23

оценка (г.)			
Симптоми на засягане на централния двигателен неврон			
Мускулна слабост	–	–	–
Спастично повишен мускулен тонус	–	–	–
Оживени СР	Горни крайници	–	–
Патологичен рефлекс на Babinsky	+	+	+
Екстрапирамидни прояви			
Ригидно повишен мускулен тонус	Долни крайници и дясна киткова става	Долни крайници	–
Дистония	Дясна ръка и долни крайници	Долни крайници, повече вдясно	Долни крайници
Тремор	–	–	–
Атаксия (SARA)			
Походка (0-8)	6	5	2
Стоеж (0-6)	5	4	1
Седеж (0-4)	3	1	0
Реч (0- 6)**	5	5	3
Общ сбор (0-40)	24	15	6
Дисфагия	–	+	+
Погледно-провокиран нистагъм	+	–	–
Сакадирани очни движения	+	–	–
IQ	95	85	80
МРТ на главен мозък			
Атрофия на striatum	+	+	+
Сигнелни промени в областта на nucl. ruber	+	+	+
Деформитети на крайниците	–	Двустранене pes cavus	Двустранене pes cavus
Хиподонтия	–	–	–
Хипогонадотропен хипогонадизъм	–	–	–

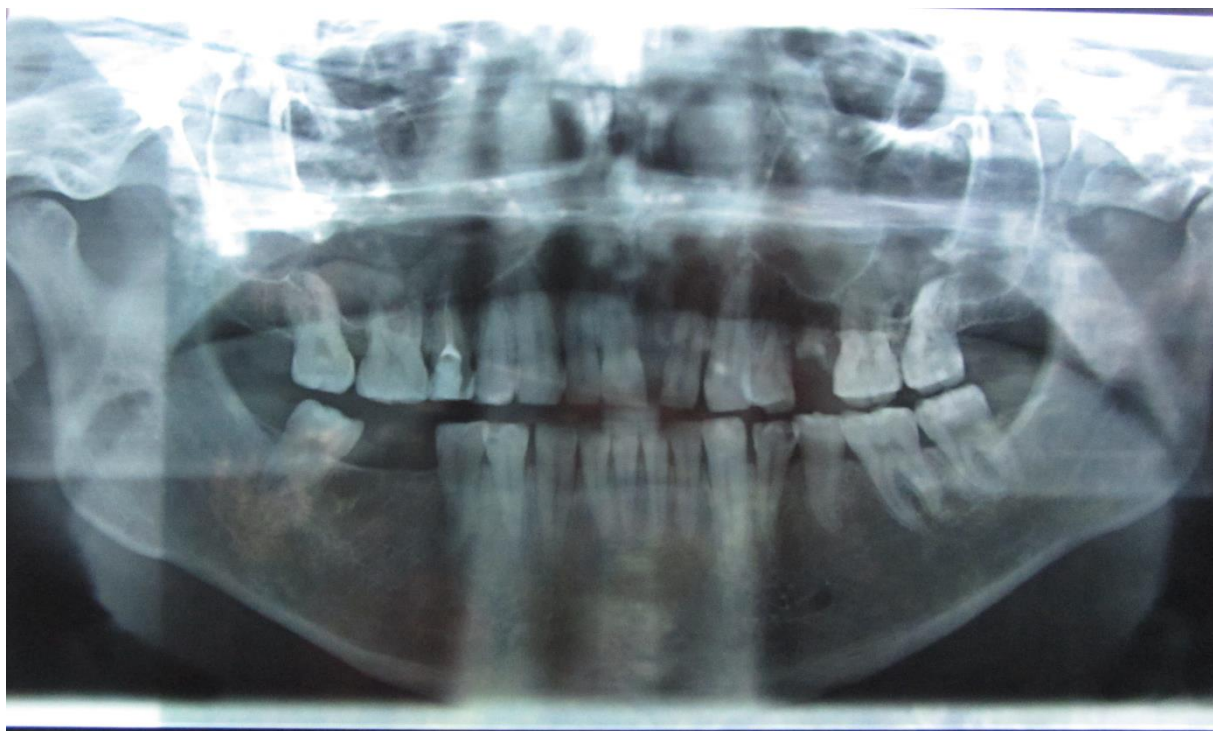


Фигура 37. Невроизобразяващи изследвания при пациент №2.

- A. AXIAL T2 FLAIR с двустранна симетрична атрофия на nucl. caudatus и putamen (стрелки)
- Б. CORONAL T2 FLAIR с двустранна симетрична атрофия на nucl. caudatus и putamen (стрелки)

В. AXIAL TSE T2- в областта на nucl. ruber и интрааксиалната част на п. oculomotorius се установява хиперинтензитет (бели стрелки)

Г. FDG PET-CT с изразен двустранен хипометаболизъм в областта на стриатума в сравнение със съответна по възраст и пол здрава контрола (Д)

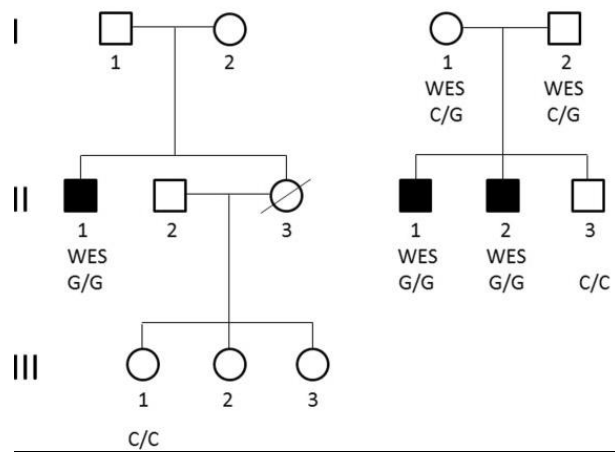


Фигура 38. Ортопантомография при пациент №3, без данни за олигодонтия.

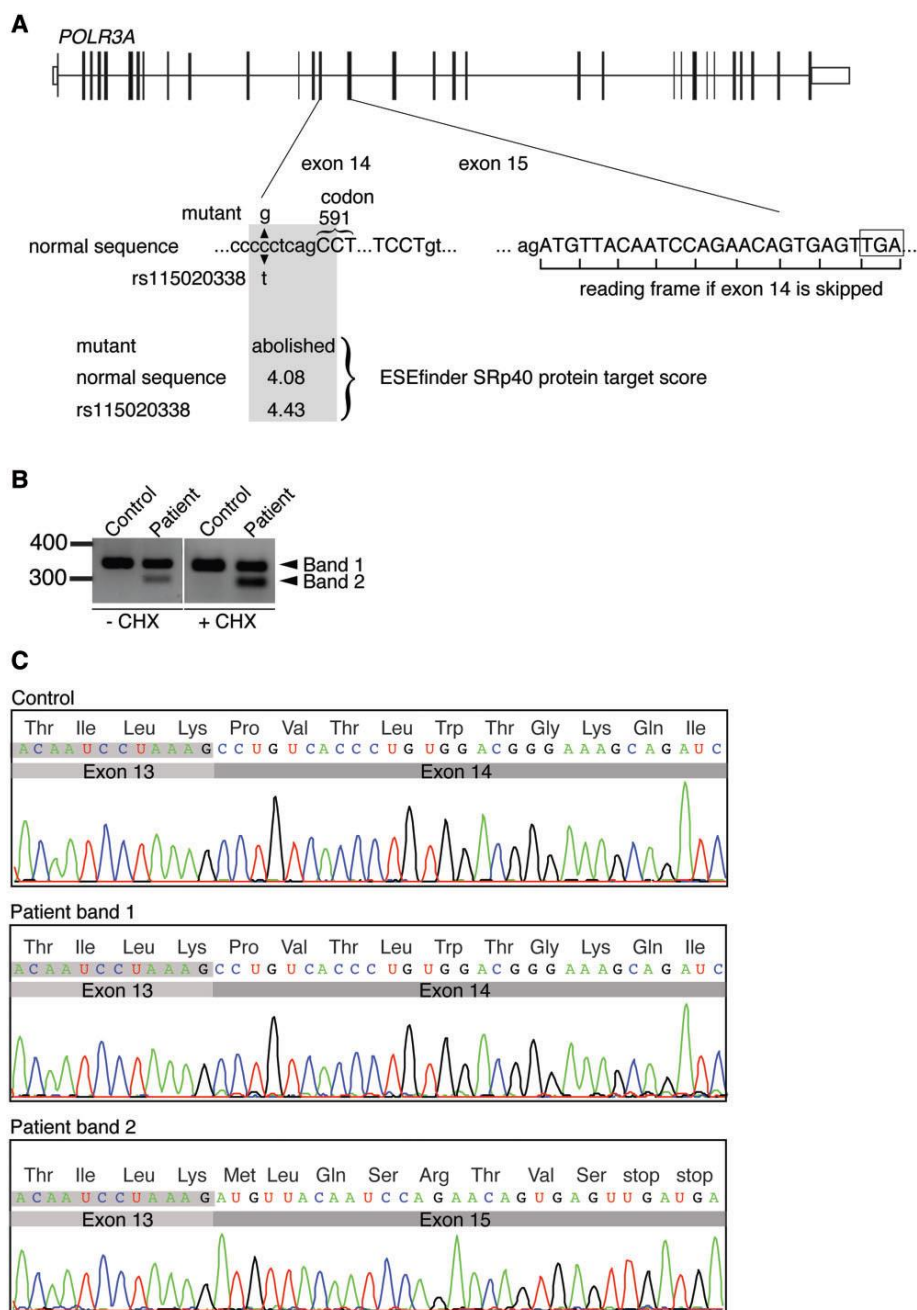
Таблица 22. Невропсихологическа оценка при българските пациенти с мутации в *POLR3A*. Получените резултати са сравнени със съответни по пол, възраст и образователен ценз здрави контроли от ромския етнос.

Пациент №	ShII-1	IzII-1	IzII-2	Контроли N=10 Средни стойности (SD)
IQ (Raven progressive matrices)	95	85	80	
MMSE	28	27	27	27.6 (1.42)
Digit span				
Прав ред	5	4	4	4.5 (0.85)
Обратен ред	4	3	2	3.2 (1.14)
Вербална фруентност				
Семантична “животни”	10	13	12	11.6 (1.71)
Фонемна “М”	5	4	5	5.1 (1.0)
Rey verbal learning test				
Непосредствено припомняне	43/75	36/75	34/75	38.0 (3.89)
Отдалечено припомняне	8/15	7/15	5/15	5.6 (1.26)
Разпознаване	30/30	28/30	26/30	26.8 (2.35)
Tower of London				
Общ брой движения	31	34	41	33.0 (2.7)
Общ брой правилни движения	6	5	5	4.9 (1.8)

От проведения WES при болните (фигура 39) се установява генетичен дефект в хомозиготно състояние NC_000010.10: g.79769439G>C; NM_007055.3: c.1771-6C>G, локализиран в интрон 13 на *POLR3A*- гена. Секвенирането по Sanger доказва наличието и сегрегацията на този вариант. Тази мутация е нова, неописана до този момент (фигура 40).



Фигура 39. Родословия на тримата болни с мутации в *POLR3A*-гена (с.1771-6C>G) Индивидите, при които е проведено WES са означени.



Фигура 40. Мутацията в *POLR3A* води до сплайсинг дефект.

А. Схематично преставяне на прогнозирания функционален ефект на мутацията в *POLR3A* с.1771-6C>G

Б. RT-PCR с праймери в екзони 13 и 15 установяват прескачане на екзон във фибробласти на

В. Секвениране по Sanger потвърждава появата на стоп кодон при новата рамка на четене

The с.1771-6C>G е мутация, локализирана на 6 нуклеотида от връзката интрон 13/ екзон 14 на *POLR3A*- гена (фигура 40). Този генен дефект води до намаление с 37-63% концентрацията на *POLR3A* транскрипта, което обуславя и парциален дефицит на полимераза III (Pol III), респ. и намалена функция. Намалени са концентрациите на тРНК и нкРНК.

Изследван е панел от ДНК на 703 здрави контроли-роми, 202 от които принадлежат към влашката група, като сред влашките роми са установени 10 хетерозиготни носители на този генен дефект. Честотата на носителство сред роми е оценена на 1.4%, а сред влашките роми- близа 5%, което е аналогично на наблюденията за други AP заболявания в тази популация (Kalaydjieva L и съавт. 2014).

Обсъждане:

Мутациите в гените *POLR3A* и *POLR3B*, кодиращи най-големите субединици на ДНК-зависимата РНК полимераза III, водят до развитието на група AP заболявания, обединен под названието хипомиелинизираща левкодистрофия 7 (Bernard G и съавт. 2011). Фенотипната хетерогенност при тази група заболявания се свързва не само с наличието или липсата на зъбни аномалии и нарушения в хормоналната регулация, но и също по отношение на засягането на бялото мозъчно вещество и малкия мозък (Bernard G и съавт. 2011; Takahashi JI и съавт. 2014).

В нашата група, при която се установява нова мутация с.1771-6C>G в *POLR3A* в хомозиготно състояние, МРТ не открива засягане на бялото мозъчно вещество, изтъняване на corpus callosum, малкомозъчна и стволова атрофия. Наблюдават се нетипични промени, засягащи striatum и nucl. ruber, корелиращи с наличието на екстрапирамидни прояви.

При нашата кохорта са налице някои клинични особености, описани и при хипомиелинизираща левкодистрофия 7, но патогенезата е различна. Дисфагията и дизартрията при HLD7 са вследствие на булбарен синдром (Bernard G и съавт. 2011), докато при българските пациенти водеща е дистонията на ларингеалните и фарингеалните мускули, като фарингеалните рефлексии са съхранени. Атаксията при HDL7 е резултат от малкомозъчната атрофия и лезии в бялото мозъчно вещество, докато при нашите болни тя най-вероятно се обуславя от засягането на дорзалния mesencephalon (Bernard G и съавт. 2011). Следователно дисфункцията на *POLR3* обуславя по-широк клиничен спектър от описвания до този момент.

Функционалните изследвания, проведени с цел да установят ефекта на мутацията върху експресията на Pol III и нейната активност, чрез изолиране на РНК от пациентите, установява намаление на тРНК и нкРНК. По този начин нарушеният РНК метаболизъм води до загягане на различни метаболитни пътища и невродегенерация (Thiffault I и съавт. 2015). Разбира се дали експресията на Pol III в мозъка е в съответствие с тази в периферната кръв налага допълнителни изследвания.

3.2.14. Синдром на Boucher-Neuhäuser

В България са доказани двама болни със синдрома на Boucher-Neuhäuser.

Пациент №1 е жена на 30 г., родена от първа нормално протекла бременност и раждане на термин, с нормално ранно моторно и невропсихично развитие, чийто оплаквания датират от юношеска възраст, когато поради аменорея е диагностициран хипогонадотропен хипогонадизъм и е започнала хормонална терапия. От 19-годишна възраст, когато се появили зрителни нарушения, по-изразени във вечерните часове. Тогава е диагностициран пигментен ретинит. От 21-годишна възраст се появили

нестабилност при ходене и залитане в неопределена посока, които много бавно прогресирали във времето. Няма данни за фамилна обремененост.

От неврологичното изследване са налице:

- Панцеребеларен синдром със статична, локомоторна атаксия в неопределена посока. Налице е динамична атаксия с лек интенционен тремор и дисметрия и дисдиадохокинезия по-изразена в леви крайници. Мускулният тонус е намален. При болната се установяват хоризонтален нистагъм (по-изразен при поглед надясно) и сакадирани очни движения.
- Пирамидни белези с положителни патологични рефлексии на Бабински и Чадок двустранно двустранно
- Полиневропатен синдром с липсващи Ахилови и коленни и отслабени стилорадиални рефлексии.

През годините са проведени многократни електроневрографски изследвания (ЕНГ) с данни за лека периферно-стволова увреда на сетивни и двигателни влакна в долни крайници- аксонен тип. МРТ на главен мозък е проведена трикратно (през 2011 г.; 2017 г.; 2019 г.) и е с данни за малкомозъчна атрофия, като са са налице намален обем на вермиса и двете малкомозъчни хемисфери, разширени интрафолиарни сулкуси и четвърти вентрикул, цистерна магна пермагна (фигура 41).

Невроофтالمологичното изследване установява:

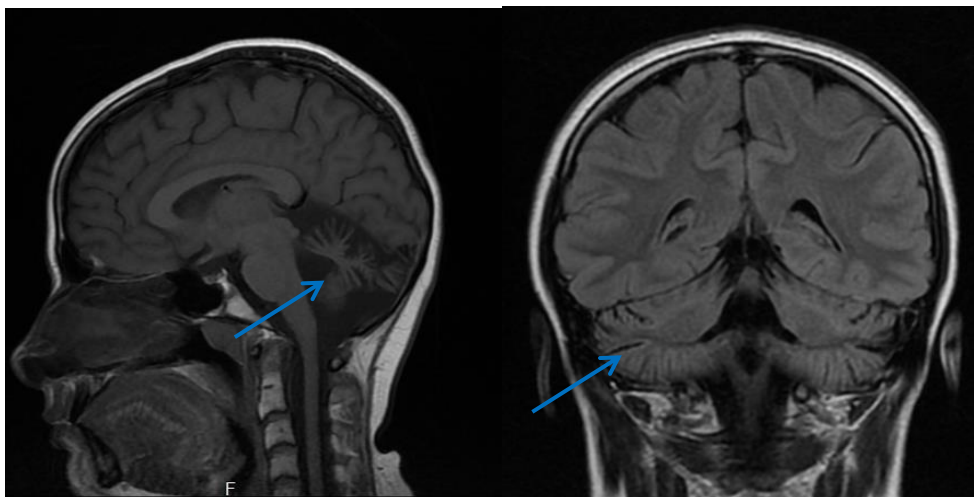
- VOD=0.7-0.8 н.к.; VOS=0.7 н.к.;
- Преден очен сегмент: нехомогенни кортикални помътнявания на лещата.
- Компютърната периметрия е с данни за "tunnel visual field".
- Очни дъна: Папили- витални, с ясни очертания. Съдове- дифузно леко стеснени. Ретини- средна периферия- пръснати пигментни струпвания, атрофия на RPE, прозира хороидея.

В заключение: Ретино-хориоидална дистрофия.

Пациентката е с нормално когнитивно функциониране.

Чрез новогенерационно секвениране (whole exome sequencing, WES) при тази пациентка бяха установени два известни хетерозиготни генетични варианта в PNPLA6 гена: NM_001166114:c.1883A>G/p.Tyr604Cys (rs1282912583) в екзон 14 и NM_001166114:c.3589C>T / p.Arg1173Trp в екзон 28 (rs766389806). И двата варианта засягат еволюционно-консервативни аминокиселини и присъстват с много ниска честота в публичните бази данни като вторият е намерен при пациент със спастична параплегия. Анализът за носителство в семейството показва, че двата варианта се унаследяват от различен родител, а клинично здравият брат на пациентката не носи нито един от двата генетични варианта.

При пациентката е проведена *in vitro* фертилизация с раждане на нормално и здраво момиче.



Фигура 41. МРТ на главен мозък при пациент №1 със синдром на Boucher-Neuhäuser. 1А T1, SAG и 1Б. T2, COR FLAIR. Налице са данни за малкомозъчна атрофия (синя стрелка).

Пациент №2 е жена на 40 г., родена от втора нормално протекла бременност и раждане. На 8-годишна възраст около една година след преживян вирусен менингит започнала да замята левия крак при ходене. Пациентката е с установена аменорея и менструацията е стимулирана хормонално. Диагностицирана с хипогонадотропен хипогонадизъм. От 23 г. започнала да вижда замъглено, походката и равновесието ѝ се нарушили - залитала при ходене, дясната ръка започнала да трепери. Постепенно и говорът се променил, станал насечен. През последните 2 г. не отчита съществена динамика. Съобщава за по-голяма сестра с аналогични оплаквания от нарушено равновесие от 25 г. възраст, която ходи с бастун от 31-годишна възраст, в момента е с паметови нарушения и затруднено преглъщане.

От неврологичния статус са налице:

- Панцеребеларен дикоординационен синдром със статична, локомоторна и динамична атаксия. При пробата на Ромберг е нестабилна при отворени и затворени очи. Налице са дисметрия при носопозачалечната (НПП) и колянно-стъпалната проба (КСП), по-изразени в дясно, дисдиадохокинезия. Установяват се хоризонтално-ротаторен нистагъм, по-изразен при поглед наляво, скандиран говор, интермитентен постурален и интенционен тремор, мускулна хипотония в горни крайници.
- Квадрипирамиден синдром с разширени рефлексогенни зони в долни крайници, поликинетични коленни рефлексии, жив Ахилев рефлекс в ляво, клонусоид на ляво стъпало, кимателен патологичен рефлекс на Бабински в дясно и леко спастично повишен мускулен тонус в долните крайници.
- Полиневропатен синдром с възбудна (парестезии) и отпадна (хипестезия за повърхностна сетивност) сетивна симптоматика по дистален тип в четирите крайника.

От проведените изследвания от ЕНГ се установява лека аксонна полиневропатия със снижени СНАП от nn. surales и СМАП от nn. peronei. МРТ на главния мозък е с данни за малкомозъчна атрофия и намален размер на хипофизата.

При невроофтальмологичното изследване се установява:

- ВОД=0,5 н.к. ВОС=0,5 н.к.
- Преден очен сегмент: в норма.
- Окуломоториката е съхранена, с двустранен погледно-провокиран нистагъм в хоризонтална посока.
- Папилите са с бледорозов колоритет, с ясни очертания, с E=0,3 ПД. Съдовете са с нормален ход и лумен. Макули –атрофия на RPE, прозира хориоидея, дисперсия на пигмента. В заключение: Ретино-хориоидална дистрофия, с предимно ангажиране на макулна област.

Когнитивното функциониране е в рамките на нормата.

При анализа на данните от WES бяха намерени два хетерозиготни генетични варианта в ген *PNPLA6*. Единият от тях е нов, неописван досега вариант NM_001166114: c.888_889insACCGTGT / p.Ser272fs в екзон 7, свързан с изместване в рамката на четене. Вторият вариант NM_001166114: c.3004G>A / p.Gly1002Ser в екзон 24 (rs772547801), е известен и води до аминокиселинна замяна в еволюционно-консервативен консенсусен серин-липазен мотив на белтъка. Тези два варианта присъстват и при по-голямата сестра на пациентката, която има същите оплаквания. Клинично здравата майка на двете сестри е носител на варианта c.888_889insACCGTGT / p.Ser272fs, но не носи другият вариант c.3004G>A / p.Gly1002Ser. Предполага се, че вторият вариант е унаследен от бащата, който по думите на майката не е имал оплаквания, свързани с изследваното заболяване, но биологичен материал от него не бе наличен за генетично изследване.

Обсъждане:

Двата представени случая са с класическата фенотипна триада- атаксия, зрителни нарушения, хипогонадотропен хипогонадизъм с вариабилна възраст на изява на отделните симптоми и различна тежест към момента на диагнозата. При нашите болни е налице леко изразена пирамидна симптоматика, но предвид категоричните данни за хориоретинално засягане те спадат към групата на синдрома на Boucher-Neuhäuser (Synofzik M и съавт. 2014). При представените случаи се установяват клинични и електроневрографски данни за леко перифернонервно засягане от аксонен тип, което също се счита за характерна особеност на заболяването (Deik A и съавт. 2014; Hufnagel RB и съавт. 2015; Synofzik M и съавт. 2014). Липсват парези. И при двете болни първичната аменорея, установена в юношеска възраст, води до диагностицирането на хипогонадотропен хипогонадизъм, налагащ хормонално лечение. При пациент 1 клиничните прояви започват сравнително късно - зрителните нарушения през второто десетилетие, а атаксията през третото, което вероятно е свързано с функционалния ефект на установените при нея мутации в *PNPLA6* и е описано, макар и по-рядко (Deik A и съавт. 2014). При двете болни е налице хориоретинална дистрофия, изразена с различна тежест.

Генетичните анализи установяват, че причина за заболяването при болните в двете семейства са различни мутации в ген *PNPLA6* (Richards S и съавт. 2015).

Синдромът на Boucher-Neuhäuser следва да влиза в съображение при болни с комбинация от атаксия, зрителни нарушения, хипогонадотропен хипогонадизъм.

4. Изводи

1. СЦА1, следвана от СЦА2 са най-честите форми на автозомно-доминантни малкомозъчни атаксии в България. И двете се характеризират с комбинация на дискоординационния синдром с квадрипирамиден и полиневропатен синдром. Антиципация във всяко следващо поколение е типична и при двете форми.
2. Болестта на Friedreich е най-честата форма от групата на AP малкомозъчни атаксии, като освен класическия фенотип с начало преди 25-годишна възраст се установява и късна форма с начало след 30 г., при което липсват клинични прояви извън централната и периферната нервна система.
3. Най-постоянната електроневрографска находка при болестта на Friedreich е липсата на СНАП за n. suralis, както и снижена или липсваща амплитуда на СНАП от n. medianus и n. ulnaris
4. Атаксия-телангиектазия-вариант е заболяване, обусловено от мутации в *ATM*-гена, при което дистонните хиперкинези и треморът с начало в различна възраст са водещи прояви. В България се установява високо носителство на мутация p.V2716A в *ATM* след българо-мохамедани в района на гр. Доспат и Сърница, което обуславя и псевдоминантен тип на предаване. Фенотипът на българските пациенти не се асоциира с имунен дефицит, повишен риск от неоплазми и инфертилитет.
5. AP форми на атаксия са по-чести сред влашките групи роми, като тук се отнасят DES, ARCA3, POLR3A и са по-редки сред милета, където се установява болестта на Niemann Pick B и SCAR13.
6. Мутациите във *VLDLR*-ген водят до DES. В България е установено инбредно семейство роми, клинично характеризиращо се с изоставане в НПП, умерена до тежка умствена изостаналост, непрогресиращ тежък дискоординационен синдром, нистагъм и пирамидни белези. От МРТ на главния мозък основни особености са намален размер на мозъка, пахигирия и тежка хипоплазия на малкия мозък и моста. Заболяването е обусловено от нова мутация p.Asp487Tyr във *VLDLR*-ген.
7. ARSACS се установява и сред четирима български пациенти с вариabilно начало от кърмаческа до юношеска възраст, като типичната клинична триада (атаксия, квадрипирамиден синдром и полиневропатия) е налице при трима от болните. При всички болни са налице патогномоничните характеристики на МРТ на главен мозък- линеални хипоинтензни лезии на T2 в моста, дифузни хиперинтензни лезии в мястото на свързване на моста със средното малкомозъчно краче и атрофия на горната част на малкомозъчния вермис. Задебеляването на RNFL, оценено чрез OCT е налично при 75% от български пациенти.
8. ARCA3 е рядка форма на AP атаксия, в България описана на този етап само при роми, клинично характеризираща се с начало с юношеска възраст, атаксия с

изразена атрофия на малкия мозък, погледно-провокиран нистагъм в посока надолу и дизартрия. Налице са и пирамидни белези с данни за патологично оживени сухожилни рефлексии. Заболяването е със сравнително бавна прогресия.

9. Клиничните характеристики на SCAR13 могат да се обобщят, като изоставане в НПП, начало в ранната детска възраст с умерена до тежка статична и локомоторна атаксия, дизартрия, лека дисдиадохокинезия и дисметрия, различен по тежест интелектуален дефицит и леки пирамидни белези. Много типични са невроофтальмологичните прояви: погледно-провокиран нистагъм, хипометрични сакади, дефицит на абдукцията, страбизъм и птоза. Невроизобразяващите изследвания са с данни за умерена до изразена малкомозъчна атрофия с или без хипоплазия на долната част на vermis без да има корелация между тежестта на атрофията и атаксията. Това заболяване е резултат от мутации в *GRM1* гена, силно експресиран в клетките на Purkinje.
10. Болестта на Niemann Pick C е с болестност 0.3/100 000 за България, като се обуславя от голямо разнообразие на мутации в NPC1-гена и се характеризира с комбинация от неврологични, психични и висцерални прояви. Ранната диагноза на болестта е важно, поради възможност за патогенетично лечение.
11. Мутациите в *POLR3A* обуславят широк спектър клинични прояви, като към типичните характеристики на хипомиелинизация, хипогонадотропен хипогонадизъм и хиподонтия се включват и екстрапирамидни прояви, свързани със засягането структурата и функцията на striatum и nucl. ruber.

5. Приноси

Научно-теоретични

1. Установена е нова мутация p.Asp487Tyr във *VLDLR*-ген, която води до DES. Основни клинични особености са изоставане в НПП, умерена до тежка умствена изостаналост, непрогресиращ тежък дискоординационен синдром, нистагъм и пирамидни белези. От МРТ на главния мозък е намален размерът на мозъка, установяват се пахикирия и тежка хипоплазия на малкия мозък и моста.
2. Открит е нов ген- *GRM1*, мутациите, в който водят да конгенитална атаксия SCAR13, като за първи път е описан и фенотипа на тази форма.
3. Установена е нова мутация c.1771-6C>G в *POLR3A*- гена, която се асоциира с нов фенотип в рамките на тремор-атаксия с централна хипомиелинизация (Хипомиелинизираща левкодистрофия 7- HLD7), включващ атаксия, екстрапирамиден синдром, дизартрия, дисфагия и атрофия на striatum, nucl. ruber. и дорзалния мезенцефалон.

Научно-приложни

4. Анализирани са разпространението на различните форми на церебеларни дегенерации в българската популация- АД и АР.

5. Установени са специфики в заболяемостта сред различните етнически групи, което ще оптимизира алгоритъма за генетичното изясняване на нови случаи с характерни фенотипи.
6. Установена е типична мутация p.V2716A в *ATM*-гена след българо-мохамедани, обуславящата специфичен фенотип (AT-вариант) с преобладаване на екстрапирамидните прояви, като е оценена честотата на носителство. Това дава възможност за генетично консултиране и проследваща пренатална диагностика в засегнатите семейства с псевдодоминантен тип на унаследяване.
7. Анализирани са ефектите от патогенетичната терапия при болестта на Niemann Pick C по отношение на церебеларното засягане.

6. ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Чамова Т**, Гергелчева В, Желязкова С, Самуел Дж, Радионова М, Сарафов Ст, Киров А, Тодоров Т, Тодорова А, Чернинкова С, Кръстев Ст, Митев В, Переновска П, Търнев И Клиничен спектър на болестта на Niemann Pick C. Медикарт. Неврология и психиатрия. 2014;4:12-18.
2. Търнев И, **Чамова Т**, Сарафов С, Господинова М, Синигерска И, Киров А, Гергелчева В, Тодоров Т, Капрелян А, Ангелова Л, Грудкова М, Генов К, Димитрова Х, Стайков И, Кастрева К, Каменов О, Богданова Д, Иванов И, Литвиненко И, Переновска П, Божинова В, Тодорова А. Селективни скринингови програми за ранна диагностика и ранно започване на лечение на пациенти с някои редки неврогенетични заболявания – опитът в България. Редки болести и лекарства сираци. 2015; 17-22.
3. **Чамова Т**, Търнев И. Клинични особености и диагноза на автозомно рецесивните малкомозъчни атаксии. Българска неврология. 2017;3:180-187.
4. Самуел Д, Андреева А, Кънчева Д, **Чамова Т**, Чернинкова С, Йорданова А, Търнев И. Автозомно-рецесивна наследствена спастична парапареза тип 15, дължаща се на мутация в *ZFYVE26* гена. Медикарт. Неврология и психиатрия. 2017;7:27-30.
5. **Чамова Т**, Тодоров Т, Кабакчиева Е, Чернинкова С, Тодорова А, Търнев И. Клинични и генетични характеристики на атаксия окулomotorна апраксия 2 (АОА2) в България. Медикарт. Неврология и психиатрия. 2018;8:47-49.
6. **Чамова Т**, Търнев И. Клинична и генетична вариабилност при атаксия-телеангиектазия (синдром на Louis Var). Българска неврология. 2019; 1:17-21.
7. **Чамова Т**, Иванова Н, Танева А, Самуел Дж, М. Крупев, Р. Кънева, В. Митев, А. Йорданова, И. Търнев. Представяне на първия случай на спастична атаксия на Charlevoix Saguenaу в България. Про медик 2020; 2:40-45.
8. **Чамова Т**, Иванова Н, Бичев С, Чернинкова С, Златарева Д, Михова К, Митев В, Кънева Р, Йорданова А, Търнев И. Синдром на Boucher-Neuhäuser при български пациенти с мутации в *PNPLA6* гена. Promedic. Неврология, психиатрия, ревматология. 2021:45-48.

9. Танева А, **Чамова Т**, Чернинкова С, Иванова Н, Михова К, Митев В, Кънева Р, Търнев. Описание на клиничен случай с CHARGE синдром. Promedic. Неврология, психиатрия, ревматология. 2021:49-52.
10. Желязкова С, Иванова Н, Михова К, Кънева Р, **Чамова Т**, Чернинкова С, Търнев И. Атаксия при изолиран дефицит на витамин Е – клиничен случай – Медицински преглед, 2023, 59(1), 53-57- под печат
11. **Чамова Т**, Търнев И. Диагностичен алгоритъм при наследствените церебеларни атаксии. Мединфо- под печат
12. **Chamova T**, Florez L, Guergeltcheva V, Raycheva M, Kaneva R, Lochmüller H, Kalaydjieva L, Tournev I. ANO10 c.1150_1151del is a founder mutation causing autosomal recessive cerebellar ataxia in Roma/Gypsies Journal of Neurology 2012; 259 (5): 906-911; [IF 3.578](#);
13. Guergeltcheva V, Azmanov D, Angelicheva D, Smith K, **Chamova T**, Florez L, Bynevelt M, Nguyen T, Cherninkova S, Bojinova V, Kaprelyan A, Angelova L, Morar B, Chandler D, Kaneva R, Bahlo M, Tournev I, Kalaydjieva L. Autosomal-Recessive Congenital Cerebellar Ataxia Is Caused by Mutations in Metabotropic Glutamate Receptor 1, The American Journal of Human Genetics 2012; 91(3):553-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.07.019>; [IF 11.202](#);
14. Azmanov DN, **Chamova T**, Tankard R, Gelev V, Bynevelt M, Florez L, Tzoneva D, Zlatareva D, Guergeltcheva V, Bahlo M, Tournev I, Kalaydjieva L. Challenges of diagnostic exome sequencing in an inbred founder population. Mol Genet Genomic Med. 2013;1(2):71-6. doi: 10.1002/mgg3.7. doi: 10.1002/mgg3.7;
15. **Chamova T**, Kirov A, Guergeltcheva V, Todorov T, Bojinova V, Zhelyazkova S, Samuel J, Radionova M, Sarafov S, Cherninkova S, Krastev S, Todorova A, Tournev I. Clinical spectrum and genetic variability in Bulgarian patients with Niemann-Pick disease type C. Eur Neurol 2016;75:113-123 (DOI: 10.1159/000444480), [IF 1.403](#);
16. Azmanov DN, Siira SJ, **Chamova T**, Kaprelyan A, Guergeltcheva V, Shearwood AJ, Liu G, Morar B, Rackham O, Bynevelt M, Grudkova M, Kamenov Z, Svechtarov V, Tournev I, Kalaydjieva L, Filipovska A. Transcriptome-wide effects of a POLR3A gene mutation in patients with an unusual phenotype of striatal involvement. Hum Mol Genet. 2016;25(19):4302-4314. doi: 10.1093/hmg/ddw263; [IF 5.985](#);
17. Renaud M, Tranchant C, Martin JVT, Mochel F, Synofzik M, van de Warrenburg B, Pandolfo M, Koenig M, Kolb SA, Anheim M; RADIAL working group (Alonso I, Azzedine H, Barbot C, Bereau M, Berkovic S, Bernard G, Bindoff LA, Bompaire F, Bonneau D, Bonneau P, Boycott KM, Bras J, Brais B, Brigatti KW, Cameron J, **Chamova T**, Choquet K, Delague V, Denizeau P, Dotti MT, El-Euch G, Elmalik SA, Federico A, Fiskerstrand T, Gagnon C, Guerreiro R, Guissart C, Hassin-Baer S, Heimdal KR, Héron B, Isohanni P, Kalaydjieva L, Kawarai T, Koht JA, Lai SC, La Piana R, Lecocq C, Linnankivi T, Lönnqvist T, Lu CS, Maas R, Mahlaoui N, Mallaret M, Marelli C, Mariotti C, Mathieu J, Méneret A, Mignarri A, Monin ML, Montaut S, Nanetti L, Nadjar Y, Poujois A, Salih MA, Sousa S, Stanier P, Stoppa-Lyonnet D, Strauss K, Tallaksen C, Tarnopolsky M, Tinant N, Tournev I, Topaloglu H, Varhaug KN, Woimant F, Wolf NI, Yahalom G, Yoon G, Young M.). A recessive ataxia diagnosis algorithm for the next-generation sequencing era. Ann Neurol. 2017; 82(6):892-899. doi: 10.1002/ana.25084; [IF 10.422](#)

7. НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Чамова Т**, Гергелчева В, Капрелян А, Каменов З, Калайджиева Л, Търнев И. Нов фенотип при нова мутация в POLD3A- гена. XIII национален конгрес по неврология с международно участие, 16 – 19.05.2013 г.-награден
2. **Чамова Т**, Азманов Д, Гергелчева В, Златарева Д, Цонева Д, Байнвелт М, Танкарт Р, Желев В, Флорес Л, Бало М, Калайджиева Л, Търнев И. Вродена атаксия при нова мутация на гена за very-low-density lipoprotein receptor (VLDLR). XIII национален конгрес по неврология с международно участие, 16 – 19.05.2013 г.
3. Гергелчева В, Азманов Д, Ангеличева Д, Смит К, **Чамова Т**, Флорес Л, Байнвелт М, Нгиен Т, Чернинкова С, Божинова В, Капрелян А, Ангелова Л, Морар Б, Чандлер Л, Кънева Р, Бало М, Търнев И, Калайджиева Л. Автозомно-рецесивна конгенитална церебеларна атаксия, дължаща се на мутация в метаботропния глутаматен рецептор 1 (GRM1). XIII национален конгрес по неврология с международно участие, 16 – 19.05.2013 г.
4. Желязкова С, **Чамова Т**, Самуел Дж, Гергелчева В, Търнев И. Болест на NiemannPickC- представяне на два случая с начало в зряла възраст.Национална конференция по неврология с международно участие, 12-15 юни 2014 г.
5. Гергелчева В, **Чамова Т**, Желязкова С, Самуел Дж, Радионова М, Сарафов С, Киров А, Тодоров Т, Тодорова А, Чернинкова С, Кръстев С, Переновска П, Митев В, Търнев И. Болест на Niemann Pick тип С в България. Национална конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитие с международно участие 23-25.10.2014 г.
6. **Чамова Т**, Гергелчева В, Желязкова С, Самуел Дж, Радионова М, Сарафов С, Киров А, Тодоров Т, Тодорова А, Чернинкова С, Кръстев С, Митев В, Божинова В, Търнев И. Клинична и генетична вариабилност при български пациенти с болест на Niemann Pick C. XIV Национален конгрес по неврология, 7 – 10.05.2015 г.- награден
7. Самуел Дж, Бичев С, **Чамова Т**, Желязкова С, Гергелчева В, Чернинкова С, Търнев И.Клинико-генетично проучване на спиноцеребеларна атаксия тип 2. XIV Национален конгрес по неврология, 7 – 10.05.2015 г.
8. **Чамова Т**, Гергелчева В, Киров А, Тодоров Т, Желязкова С, Самуел Дж, Радионова М, Сарафов С, Чернинкова С, Кръстев С, Тодорова А, Търнев И. Клиничен спектър на болестта на Niemann Pick C. Възможности за диагностика и лечение в България. Шеста национална конференция за редки болести и лекарства сираци. Пловдив. 11-12.09.2015 г.
9. **Чамова Т**, Иванов И, Пачева И, Авджиева Д, Тинчева Р, Литвиненко И, Ролфс А, Чернинкова С, Божинова В, Търнев И. Селективна скринингова програма за болест на Niemann Pick тип С в България.XV Национален конгрес по неврология с международно участие.К.к. Златни пясъци. 2-5.06.2016 г.
10. **Чамова Т**, Бичев С, Гергелчева В, Чернинкова С, Капрелян А, Ангелова Л, Божинова В, Грудкова М, Самуел Дж, Желязкова С, Танева А, Азманов Д, Тодорова А, Калайджиева Л, Йорданова А, Търнев И. Клинична и генетична вариабилност на

церебеларните атаксии в България. XV Национален конгрес по неврология с международно участие. К.к. Златни пясъци. 2-5.06.2016 г.

11. **Чамова Т**, Кънчева Д, Тодоров Т, Пачева И, Иванов И, Чернинкова С, Златарева Д, Хаджийска В, Наумова Е, Йорданова А, Тодорова А, Търнев И. Дистония-тремор синдром–вариант на болестна Louis-Var, обусловен от хомозиготна мутация р.V2716а в АТМ гена. Национална конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие. София, 20-22.10.2016.
12. **Чамова Т**, Търнев И. Автозомно-рецесивни заболявания прибългаро-мохамедани. Националната конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие. София, 20-22.10.2016.
13. Тодорова А, Тодоров Т, Киров А, Божинова В, Димова П, Глушкова М, **Чамова Т**, Йорданова А, Търнев И. Нови технологии за молекулярно-генетична диагностика в сравнение със златния стандарт. Спиноцеребеларни атаксии и неврофиброматоза. Националната конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие. София, 20-22.10.2016.
14. **Чамова Т**, Кънчева Д, Тодоров Т, Пачева И, Иванов И, Чернинкова С, Златарева Д, Хаджийска В, Наумова Е, Йорданова А, Тодорова А, Търнев И. Дистония-треморсиндром–вариантнаболестна Louis-Var, обусловен от хомозиготна мутация р.V2716а в АТМ гена.XVI Национален конгрес по неврология с международно участие. К.к. Златни пясъци. 18-21.05.2017 г.- награден
15. Ишпекова Б, **Чамова Т**. Електрофизиологични изследвания при болни с Атаксия на Friedreich. Втори национален конгрес по ЕМГ, ЕП и ТМС. 29.09-01.10.2017. Слънчев бряг, България.
16. **Чамова Т**, Тодоров Т, Кабакчиева Е, Чернинкова С, Тодорова А, Търнев И. Клинико-генетични характеристики на Атаксия-окулomotorна апраксия 2 (АОА2). XVII Национален конгрес по неврология с международно участие. К.к. Златни пясъци. 17-20.05.2018 г.
17. **Чамова Т**, Тинчева Р, Авджиева Д, Божинова В, Танева А,И. Иванов И, Пачева И, Търнев И. Отчитане на ефекта на терапията с Miglustat за еволюцията на атаксията при българските пациенти с болест на Niemann-Pick тип С.XVII Национален конгрес по неврология с международно участие. К.к. Златни пясъци. 17-20.05.2018 г.
18. **Чамова Т**, Търнев И. Церебеларни атаксии в България - форми и клинични характеристики. Националната конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие. София, 11-12.10.2018.
19. **Чамова Т**, Иванова Н, Танева А, Самуел Дж, М. Крупев, А. Йорданова, Търнев И. Спастична атаксия на Charlevoix-Saguenay (ARSACS). Представяне на първия в България генетично доказан случай. XVIII Национален конгрес по неврология, к. к. Златни пясъци, 16-19 май 2019 г.
20. **Чамова Т**, Чернинкова С, Търнев И. Засягане на периферните нерви при пациенти с церебеларни дегенерации. Четвърти национален конгрес по ЕМГ, ЕП и ТМС. 27-29.09.2019. Боровец, България.
21. **Чамова Т**, Иванова Н, Бичев С, Чернинкова С, Златарева Д, Михова К, Митев В, Кънева Р, Йорданова А, Търнев А. Синдром на Boucher-Neuhäuser при български пациенти с мутации в PNPLA6 гена. Научно-практическа конференция на „Ден на

Редките болести в България“ под егидата на Българското дружество по неврология и Българското дружество по ендокринология. 28-29 февруари 2020.

22. **Чамова Т**, Тодоров Т, Кънчева Д, Янкова П, Пачева И, Иванов И, Чернинкова С, Златарева Д, Хаджийска В, Наумова Е, Йорданова А, Тодорова А, Търнев И. Клиничен спектър на атаксия-телегиектазия- вариант при български пациенти с мутации в АТМ- гена. Научно-практическа конференция на „Ден на Редките болести в България“ под егидата на Българското дружество по неврология и Българското дружество по ендокринология. 28-29 февруари 2020.
23. **Чамова Т**, Иванов И, Пачева И, Божинова В, Тодоров Т, Тодорова А, Търнев И. Болест на Niemann-Pick тип С. Възможности за лечение. XX Национален конгрес по неврология, к. к. Златни пясъци, 07-10 октомври 2021 г.
24. **Чамова Т**. Нови терапевтични стратегии при наследствените церебеларни атаксии. Националната конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие. София, 02-03.09.2021.
25. **Чамова Т**, Иванов И, Пачева И, Божинова В, Тодоров Т, Тодорова А, Търнев И. Болест на Niemann Pick C. Възможности за лечение. Националната конференция по детска неврология, психиатрия и психология на развитието с международно участие. София, 02-03.09.2021.
26. **Chamova T**, Guerguelcheva V, Bojinova V, Kirov A, Todorov T, Todorova A, Tournev I. Phenotypical and genetic variability in Bulgarian patients with Niemann Pick C disease. 7th Scientific Symposium on Niemann-Pick Disease Type C (NP-C): Pioneering Approaches to Diagnosis and Disease Management. Estoril, Portugal 20-21 May 2015
27. **Chamova T**, Bojinova V, Cherninkova S, Eichler S, Schmidt K, Rolfs A, Tournev I. Neuroimaging characteristics of two Bulgarian patients with early infantile form of Niemann Pick type C. 8th Scientific Symposium on Niemann-Pick Disease Type C (NP-C): Bridging the gaps between genetics, pathophysiology and patient care. 11-13 March 2016, Budapest, Hungary.
28. **Chamova T**, Tournev I. NP-C in the Roma (Gypsy) population in Bulgaria. 9th Scientific symposium on Niemann-Pick disease Type C (NP-C): Scientific breakthroughs advance our aspirations for clinical practice. 24–26 March 2017, Dublin, Ireland.
29. **Chamova T**, Kancheva D, Todorov T, Pacheva I, Ivanov I, Cherninkova S, Zlatareva D, Hadjiiska V, Naumova E, Jordanova A, Todorova A, Tournev I. Primary appearing tremor-dystonia, due to homozygous mutation p.V2716A in ATM gene in Bulgarian muslims. EAN 24-27 June 2017, Amsterdam, The Netherlands.
30. **Chamova T**, Azmanov D, Angelicheva D, Smith K, Florez L, Guerguelcheva V, Bynevelt M, Nguyen T, Cherninkova S, Bojinova V, Kaprelyan A, Angelova L, Morar B, Chandler D, Kaneva R, Bahlo M, Tournev I, Kalaydjieva L. Autosomal-recessive congenital cerebellar ataxia is caused by mutations in Metabotropic glutamate receptor 1. 12th BALKAN CONGRESS OF HUMAN GENETIC. 8th NATIONAL CONFERENCE FOR RARE DISEASES. 8-10 September 2017, Grand Hotel Plovdiv, Bulgaria.
31. **Chamova T**, Mihaylova V, Sinigerska V, Kirov A, Todorov T, Bojinova V, Tincheva R, Ivanov I, Pacheva I, Zhelyazkova S, Samuel J, Radionova M, Sarafov S, Cherninkova S, Guerguelcheva V, Krastev S, Todorova A, Kalaydjieva L, Tournev I. Niemann-pick disease type B and type C in Bulgaria – genetic and clinical characteristics. 12th BALKAN

CONGRESS OF HUMAN GENETIC. 8th NATIONAL CONFERENCE FOR RARE DISEASES. 8-10 September 2017, Grand Hotel Plovdiv, Bulgaria.

32. **Chamova T**, Tincheva R, Avdjieva D, Bojinova V, Taneva A, Ivanov I, Pacheva I, Tournev I. Impact of Miglustat treatment on the evolution of ataxia in Bulgarian patients with Niemann-Pick disease type C. 10th Scientific symposium on Niemann-Pick disease Type C (NP-C): Continuing our 10-year voyage of discovery. 16–18 March 2018, Noorwijk., The Netherlands.
33. **Chamova T**, Todorov T, Kancheva D, Yankova P, Pacheva I, Ivanov I, Cherninkova S, Zlatareva D, Hadjiiska V, Naumova E, Jordanova A, Todorova A, Tournev I. Clinical variability of variant of ataxia–telangiectasia among Bulgarian patients with mutations in ATM. EAN, 22-25 May 2020. 2020 European Journal of Neurology, 27 (Suppl. 1 (Suppl. 1)), 103–522.

8. Summary

Cerebellar ataxias represent a group of disorders with heterogeneous clinical presentation. Patients may exhibit a pure cerebellar phenotype or various combinations of cerebellar deficits and extracerebellar signs, such as pigmentary retinopathy, extrapyramidal movement disorders, pyramidal signs, cortical symptoms (seizures, cognitive impairment/behavioural symptoms) and peripheral neuropathy.

The aims of the current study is to unravel the different forms of hereditary ataxias in Bulgaria, as well as to define their epidemiology and genotype-phenotype correlations.

The most common autosomal dominant types in Bulgaria are spinocerebellar ataxias (SCA) type 1 and 2, characterized by a complex phenotype, where ataxia is combined with pyramidal, extrapyramidal, peripheral nerve involvement and cognitive impairment. The most frequent autosomal recessive (AR) forms are Friedreich ataxia and Niemann Pick C disease.

AR forms are quite frequent in ethnic or religious minorities with limited genetic diversity.

Ataxia teleangiectasia- variant is a common form in a group of Bulgarian Muslims, residing in the regions of Dospat and Surnitza. It is mainly due to a homozygous mutation c.8147T>C (p.V2716A) in *ATM* gene with a carrier rate of 1% in the above mentioned population. The condition is milder, compared to the classical form and is characterized by tremor and dystonia, predominantly affecting the neck and the upper limbs.

Among the Gypsy/Roma disequilibrium syndrome (DES), ARCA3, *POLR3A*-related disorder were found in the Vlax group, while Niemann Pick B and SCAR13 were typical for the Muslim Roma.

Mutations in *VLDLR*-gene are causing DES. The first Bulgarian patients with DES were reported in this study. They were carrying a novel homozygous mutation, p.Asp487Tyr in *VLDLR*, resulting in a clinical phenotype, encompassing global developmental delay, moderate to severe intellectual deficit, nonprogressive severe truncal ataxia, dysarthric speech, gaze-evoked nystagmus, mild intentional tremor, and pyramidal signs. Neuroimaging showed global small brain, pontocerebellar hypoplasia, and mild to moderate cortical thickening with gyral simplification more pronounced in the frontal and temporal regions.

We report a Gypsy family with autosomal recessive ataxia caused by the same truncating *ANO10* defect, confirming p.Leu384fs as another founder mutation in this population, resulting in clinical onset during childhood/adolescence, slow progression, cerebellar ataxia, pyramidal features and downbeat nystagmus.

Mutations in a novel gene, *GRM1*, encoding metabotropic glutamate receptor mGluR1, which is highly expressed in cerebellar Purkinje cells and plays an important role in cerebellar development and synaptic plasticity, were described for the first time in human patients. The two mutations affect a gene region critical for alternative splicing and the generation of receptor isoforms (c.2652_2654del and c.2660p2T>G, respectively). Patients presented with global developmental delay, moderate to severe stance and gait ataxia, dysarthria, mild dysdiadochokinesia, dysmetria and tremors, intellectual deficit, and mild pyramidal signs. Brain imaging revealed progressive generalized cerebellar atrophy, and inferior vermian hypoplasia and/or a constitutionally small brain were observed in some patients. This novel form of congenital ataxia is known as SCAR13.

Niemann Pick type C disease has a prevalence of 0.3/100 000 in Bulgaria and it is caused by a big variety of mutations in *NPC1* gene. The condition is complex, encompassing neurological, psychiatric and visceral involvement. Its early diagnosis is crucial, because there is a pathogenetic treatment available.

A novel and founder mutation c.1771-6C>G in the *POLR3A* gene was described in patients of Roma ethnicity who presented with an unusual clinical and neuroimaging phenotype. These patients showed no MRI evidence of white matter involvement, and did not replicate previous findings of thinned corpus callosum, vermian cerebellar atrophy, prominent cerebellar folia and brainstem atrophy. Instead, they presented with striatal and red nucleus involvement and clinical manifestations (ataxia, dystonia, pyramidal features and dysphagia), corresponding to the unusual localization of the pathological changes.

In conclusion the number of cerebellar ataxias is still growing as a result of the development of new genetic technologies. The precision of the phenotype is crucial for further diagnosis, treatment and prophylaxis of these various conditions.